

## USING OF SOME CHEMICAL AND BIOCONTROL AGENTS TO CONTROL OF CUCUMBER ROOT ROT DISEASE CAUSED BY *Rhizoctona solani* Kuhn

استخدام بعض العوامل الكيميائية و الاحيائية لمكافحة مرض تعفن جذور الخيار

المتسبب عن الفطر *Rhizoctona solani* Kuhn

عهد عبد علي هادي مطلوب<sup>1</sup> \* كامل سلمان جبر<sup>2</sup> كوثر فاضل علوان<sup>3</sup>

1 ، 3 جامعة الفرات الأوسط الكلية التقنية المسيب / قسم تقنيات المقاومة الاحيائية 2، كلية الزراعة جامعة بغداد/قسم وقاية النبات

### المستخلص :

هدفت الدراسة إلى عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الخيار من النباتات المصابة التي جمعت من بعض حقول محافظة بابل واختبار فاعلية بعض عوامل مكافحة الإحيائية ضده تحت ظروف المختبر و الظلة الخشبية. أوضحت النتائج وجود مرض تعفن جذور الخيار في كافة عينات المناطق التي تم مسحها. وبينت نتائج العزل والتشخيص الحصول على أربعة عزلات من الفطر *Rhizoctona solani*. أظهرت نتائج اختبار المقطرة الأمراض لعزلات الفطر باستعمال بذور اللهانة إن جميع العزلات سببت خفض معنوي بنسبة إنبات بذور اللهانة وبتفوق معنوي للعزلة Rh2 إذ منعت إنبات البذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الإنبات فيها 100 % كما سببت العزلات Rh1 و Rh2 خفصاً معنوياً بنسبة إنبات بذور الخيار التي بلغت في معاملتها 0.0 و 16.7% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة 100 %. وظهر الفطر *Trichoderma harzianum* فاعلية عالية ضد الفطر الممرض إذ حققت نسبة تثبيط 74.8% في حين منعت البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* نمو الفطر الممرض بالكامل وبنسبة تثبيط بلغت 100 % كما سببت التراكيز المنسوية من العالق البكتيري نسب تثبيط عالية للفطر الممرض بلغت 100 % عند التركيز 10 ، 25 و 50 % في حين بلغ قطر المستعمرة عند التركيز 1 % 0.67 و 1.0 سم للبكتريا *B.subtilis* و *P. fluorescens* على التوالي وبنسبة تثبيط بلغت 92.5 و 88.8% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي كان معدل نمو الفطر *Rhizoctona solani* عندها 9.0 سم ونسبة التثبيط صفر، أظهرت نتائج الظلة الخشبية ان جميع المعاملات المستعملة في مكافحة والتي شملت العامل الإحيائي *T. harzianum* والبكتريا *B. subtilis* و *P. fluorescens* أدت إلى خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار ومقتربة من فاعلية المبيد الكيميائي Beltanol. كما ساهمت العوامل الإحيائية بمفردها إلى زيادة طول النبات والوزن الطري والجاف قياساً بمعامل المقارنة بدون الفطر الممرض. يتضح من النتائج أعلاه إمكانية استعمال عوامل حيوية أمينة للبيئة في مكافحة تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *R. solani* للحد من استعمال المبيدات الكيماوية والأضرار الناجمة عنها.

### Abstract:

This study aimed to isolate and identify the pathogen of cucumber root rot disease from Babylon fields. And to test the activity of some biocontrol agents against it under laboratory and lath house conditions . The results showed the presence of cucumber root rot disease in all surveyed districts of Babylon region. The results of Isolation and identification showed the presence of 4 isolates of *Rhizoctonia solani* fungus, the test of pathogenicity for isolates showed that all isolates caused a significant reduction of cabbage seed germination percentage, most isolates of *R. solani* Rh2 were pathogenic and prevent seed germination completely compared to control 100 %. also the Rh 2 and Rh1 isolates affected on cucumber seed germination which was 0.0 and 16.7% respectively compared to control 100%. *Trichoderma harzianum* had high antagonistic ability to the *R. solani* with inhibitory rate 74.8 % whereas, the *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* bacteria prevented growth of fungus completely, results showed the concentrations of bacterial suspension caused high antagonistic ability against pathogen giving 100 % in 10 , 25 , and 50 % whereas, the 1% concentration was affective on fungal radial growth to 0.67 and 1.0 cm for *P. fluorescens* and *B. subtilis* respectively and inhibition rate was 88.8 and 92.5% respectively. The results showed that all biocontrol agents treatments which were included *T. harzianum* and the *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* bacteria caused significant reduction of disease incidence and severity of cucumber root rot under lath house conditions and closed to Beltanol fungicide activity. On the other hand, all biocontrol agents which added alone to plant caused a significant increase in plant height, wet and dry weight compared to control without pathogen. These results appeared that the ability to use the biocontrol agent to cucumber root rot caused by *Rhizoctona solani* Kuhn as alternative method to reduce using and damages of chemical fungicides.

## المقدمة:

يعد محصول الخيار *Cucumis sativs L.* من المحاصيل الاقتصادية المهمة والمرغوبة في العراق وهو من محاصيل العائلة القرعية *Cucurbitaceae* [1] ، بلغت المساحة المزروعة بالمحصول لعام 2010 بـ 188400 دونم وكان الانتاج 431900 طن [2] ، رافقت زراعة نبات الخيار ظهور العديد من الأمراض ويأتي في مقدمتها موت البادرات وتعفن الجذور المتسببة عن أحياء التربة الممرضة كالفطريات والتي تعد من أخطر الممرضات كونها تتواجد في التربة التي تحكم بينهما علاقات متداخلة ومعقدة مع البيئة المحيطة بها [3] ، ومن أهم الأمراض الفطرية هو مرض تعفن الجذور وسقوط البادرات وأهم الفطريات التي تسبب هذا المرض هو الفطر *Rhizoctonia solani* الذي يعد مسبب رئيس للمرض في العديد من دول العالم وله مدى عائلي واسع [4] . التجأ العديد من الباحثين والمختصين بأمراض النبات للبحث عن طرائق بديلة للمكافحة الكيميائية نتيجة الأضرار التي أحدثتها المبيدات وسوء استعمالها فظهرت المكافحة الإحيائية كإحدى أهم البدائل المطروحة [5، 6، 7] . تعد المكافحة الإحيائية طريقة متخصصة في تأثيرها في مسببات الأمراض النباتية كما إنها طريقة آمنة لا تسبب تلوث البيئة ولا تحدث أي خلل بالموازنة الطبيعية للأحياء كما تفعل المبيدات [4، 8] . ومن الوسائل الحيوية التي استخدمت لمكافحة الممرضات النباتية هو استخدام الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور واستغلال نشاطاتها ضد مسببات الأمراض الفطرية [9، 10] ، وتعيش بعض الكائنات الحية الدقيقة ذات القدرة التضادية في الترب ذات الإعاقة الذاتية أو الكابحة (*suppressive soil*) للممرضات النباتية ومن هذه الكائنات فطر *Trichoderma* و *Gliocladium* وبكتريا *Pseudomonas* و *Bacillus* إضافة إلى كائنات أخرى [11، 12، 13] وهناك ما يعرف ببكتريا الجذور المشجعة لنمو النبات *Plant growth promoting rhizobacteria* و معظم أنواع هذه البكتيريا (PGPR) تعود إلى جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* التي تمتلك وسائل ميكانيكية للسيطرة الحيوية على الأمراض النباتية منها التنافس على الأوساط الغنية بالمواد الأولية وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من مسببات المرضية وإنتاج مضادات حيوية [14، 15] . كما نال الفطر *Trichoderma harzianum* اهتماما كبيرا في مجال المكافحة الإحيائية للعديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطر *R. solani* وذلك لتمتعه بخصائص عدة جعلته من أكثر وأشهر أنواع الجنس استخداما [12، 13] وإضافة إلى ما يملكه الفطر من كفاءه تضادية عالية وبأليات متعددة ضد العديد من مسببات المرضية وتشجيعه لنمو النبات فإنه يتميز بسهولة عزله وسرعة نموه وتكاثره وامكانية تنميته وتحميله على اوساط غذائية رخيصة الثمن وتواجده في معظم انواع الترب والبقاء فيها لمدة طويلة [16، 17] . ونظرا لأهمية هذا المرض ولقلة الدراسات حوله وكمحاوله لتقييم كفاءة بعض عوامل المكافحة الإحيائية ضد مسببات المرض وإدخالها في برامج المكافحة الإحيائية كبدايل للمبيدات الكيميائية هدفت الدراسة الى اختبار كفاءة بعض عوامل المكافحة الإحيائية ومنها الفطر *Trichoderma harzianum* وبعض انواع البكتريا والمبيد الكيميائي بلتانول في تضادها مع الفطر الممرض.

## المواد وطرائق العمل:

## تحديد نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار وعزل وتشخيص الفطر المسبب للمرض

تم جلب نماذج نباتات الخيار من بعض المناطق السدة، البدعة، طريق ابو الجاسم، الطاهرية في محافظة بابل للمدة ما بين 9/10/2012 ولغاية 21/10/2012 ( جدول 1) لتحديد نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور نباتات الخيار وتم اختيار أربعة حقول ساحتها ما بين 2-3 دونم و فحصت النباتات السليمة والمصابة الواقعة ضمن تقاطع الأقطار لكل حقل وتم حساب النباتات المصابة بالاعتماد على الأعراض الظاهرة والتي تمثلت باصفرار الأوراق وموت بعضها، ظهور تقرحات عند قاعدة الساق و تعفن الجذور وضعف النبات وحسبت النسبة المئوية للإصابة لكل حقل باستخدام المعادلة الآتية :  
النسبة المئوية للإصابة = (عدد النباتات المصابة/ العدد الكلي للنباتات المفحوصة) × 100%.

الجدول 1: مواقع وتاريخ إجراء المسح الحقل

| رقم العينة | الموقع          | مساحة الحقول دونم | تاريخ اخذ العينة |
|------------|-----------------|-------------------|------------------|
| 1          | السدة           | 3                 | 9/10/2012        |
| 2          | البدعة          | 2                 | 14/10/2012       |
| 3          | طريق ابو الجاسم | 2                 | 16/10/2012       |
| 4          | الطاهرية        | 3                 | 21/10/2012       |

جلبت النباتات إلى المختبر في أكياس بولي اثيلين ووضعت في الثلاجة في درجة حرارة 4م. في اليوم التالي غسلت الجذور بالماء الجاري لمدة نصف ساعة لإزالة الأتربة، ثم قطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5-1 سم وعقمت تعقيماً سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم تركيز 1% كلور حر لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بماء مقطر معقم لمدة 2 دقيقة ثم جففت بورق الترشيح المعقم. نقلت 4 قطع إلى أطباق بتري بقطر 9 سم حاوية على الوسط الزراعي اكار السكروز والبطاطا Potato sucrose agar (PSA) (200غم بطاطا، 10غم سكروز، 20 غم اكار، 1 لتر ماء مقطر) والمضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250ملغم/لتر بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121م وضغط 1جو ولمدة 15دقيقة وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1م لمدة ثلاثة أيام وبعدها تم إجراء الفحص للتحري عن وجود الفطر *Rhizoctonia* وتنقيته بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوٍ على الوسط الزراعي PSA حضنت الأطباق لمدة 4 أيام وبعدها تم حفظ العزلات في انابيب اختبار حاوية على تربة معقمة واخرى حاوية على الوسط PSA.

#### تشخيص الفطر *R. solani*

شخص الفطر *R. solani* بعد ظهور النموات الفطرية وذلك حسب الصفات المذكورة في المفاتيح التصنيفية المعتمدة [18، 19، 20].

#### تحضير لقاح عزلات الفطر *R.solani* بتحميله على بذور الدخن

حضر لقاح عزلات الفطر *R.solani* حسب طريقة Dewan [21] أذ استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لتحضير اللقاحات الفطرية. أخذت بذور الدخن وتم غسلها جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب ثم نقعت لمدة 6 ساعات بالماء بعد ذلك تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها ووضع 50غم من البذور في دوران زجاجية سعة 250مل وعقمت الدوارق في جهاز المؤصدة لمدة ساعة واحدة تركت الدوارق لتبرد ثم لقع كل دورق بخمسة أقراص قطر 0.5 سم من الوسط الزراعي PSA الحاوية على نموات عزلات الفطر *R.solani*، حضنت الدوارق في درجة حرارة 25 ± 1م لمدة 15 يوماً مع رج الدوارق كل 3 أيام لضمان التهوية وتوزيع الفطر على جميع البذور.

#### اختبارات القدرة الإراضية

#### اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر *R. solani* باستعمال بذور اللهانة

تم اختبار القدرة الإراضية لأربع عزلات (*R.solani* = Rh1) عزلة منطقة السدة، Rh2 = عزلة منطقة البدعة Rh3 = عزلة منطقة أبو الجاسم Rh4 = عزلة منطقة الطاهرية) من الفطر *R.solani* حسب طريقة Bolkan و Butler [22] وذلك بتحضير أطباق بتري قطرها 9 سم حاوية على 15-20 مل من الوسط الزراعي الأكار المائي Water agar (المحضر من 20 غم أكار في لتر من الماء المقطر) المعقم بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة وضغط 1جو ومضاف إليه المضاد الحيوي التتراسايكلين 250 ملغم/لتر. لقت الأطباق بأقراص قطرها 0.5 سم من مستعمرات عزلات الفطر *R.solani* المنمأة على الوسط الزراعي PSA بعمر 5 أيام كل على انفراد. ثم وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1م وبعد يومين زرعت بذور اللهانة المحلية تم اختبار نسبة إنباتها مسبقاً المعقمة سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم 1% كلور حر لمدة 3 دقيقة ثم غسلت بماء مقطر معقم بعد ذلك جففت بوضعها على ورق الترشيح المعقم ثم وضعت بشكل دائري قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة/ طبق وبأربعة مكررات لكل عزلة مع ترك معاملة مقارنة بدون فطر. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 1م وأخذت النتائج بعد سبعة أيام وذلك بحساب النسبة المئوية للإنبات للبذور وكما يلي:

$$\% \text{ للإنبات} = (\text{عدد البذور النابتة} / \text{العدد الكلي للبذور}) \times 100\%$$

تأثير عزلات الفطر *R. solani* الممرضة في إنبات بذور الخيار:

أجريت هذه التجربة في أصص بلاستيكية قطر 12.5 سم وسعة 1كغم وقد تم ملء الأصص 1كغم تربة معقمة بغاز بروميد المثلل تركت التربة لفترة 15يوم قبل الاستعمال ثم لوثت التربة بلقاح عزلات الفطر بنسبة 1% (وزن/وزن) المحمل على بذور الدخن وكررت كل معاملة ثلاث مرات مع ترك ثلاث مكررات استخدمت كمقارنة ووضعت في الظلة الخشبية. رطبت جميع الأصص بالماء المقطر وبعد ثلاثة أيام من تلويث التربة باللقاح الفطري زرعت الأصص ببذور الخيار المحلي (وبعد تعقيمها سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم) بمعدل 10 بذور لكل أصيص سقيت الأصص بعد الزراعة وتم متابعتها. حسب النسبة المئوية للإنبات عند اكتمال نسب الإنبات في معاملة المقارنة.

#### اختبار المقدرة التضادية للفطر *Trichoderma harzianum* ضد الفطر *Rhizoctonia solani* على الوسط PSA -

تم اختبار المقدرة التضادية للفطر *T.harzianum* مع عزلة الفطر *R.solani* الممرضة بطريقة الزرع المزدوج إذ قسم طبق بتري بقطر 9 سم حاوي على الوسط الزراعي PSA بقطر وهمي إلى قسمين متساويين ولقح مركز القسم الأول بقرص قطره 0.5 سم من الوسط الزراعي PSA النامية عليه مستعمرة الفطر الممرض Rh2 ويعمر 7 أيام أما مركز القسم الثاني فقد لقع بقرص مماثل من مستعمرة العامل الإحيائي. نفذت التجربة بواقع 3 مكررات مع تنفيذ معاملة مقارنة وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بالفطر الممرض *R. solani* فقط. وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1م ولمدة 7 أيام وتم تقدير التضاد حسب المقياس الذي وضعه Bell وآخرون [23] والمكون من 5 درجات وكما يلي

- 1- نموات الفطر المقاوم تغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو
- 2- نموات الفطر المقاوم تغطي ثلثي مساحة الطبق وتغطي نموات الفطر الممرض الثلث الباقي
- 3- نموات الفطر المقاوم تغطي نصف مساحة الطبق ونموات الفطر الممرض تغطي النصف الآخر
- 4- نموات الفطر المقاوم تغطي ثلث مساحة الطبق بينما تغطي نموات الفطر الممرض الثلثين الآخرين
- 5- الفطر المقاوم غير نامي وتغطي نموات الفطر الممرض كامل مساحة الطبق

\*ويعد العامل الإحيائي فعالاً من الناحية التضادية عند إظهار درجة تضاد 2 أو أقل مع عزلات الفطر *R. solani* ، من جانب آخر استعمل المبيد الكيميائي Beltanol كمقارنة لقياس فاعلية العوامل المختبرة، حضر 100 مل من الوسط الزرعي PSA في دورقين سعة كل منهما 250 مل وعقمت في جهاز المؤسدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 1 جو لمدة 20 دقيقة بعد التعقيم وانخفاض درجة الحرارة إلى ما قبل التصلب أضيف إلى الدورقين المضاد الحيوي التتراسايكلين وبمعدل 250 ملغرام/ لتر ثم أضيف لأحد الدورقين المبيد الكيميائي البلتانول وبتركيز 1 مل/ لتر أما الدورق الثاني فترك بدون إضافة مبيد كمعاملة مقارنة ثم رج الدورق الحاوي على الوسط الزرعي المضاف إليه مبيد البلتانول وصب الوسط الزرعي لكل من الدورقين في 3 أطباق بلاستيكية معقمة قطر كل منها 9 سم وبعد تصلب الوسط لقع مركز كل طبق من الأطباق بقرص من الفطر الممرض *R. solani* قطر كل منها 5 ملم مأخوذة من حافة مستعمرة الفطر الممرض بعمر 4 أيام بواسطة الثاقب الفليني ثم حضنت جميع الأطباق [24] ، 25] وسجلت النتائج حين وصول الغزل الفطري في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق بعدها حسب مقدار التثبيط لنمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز القرص وحددت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقاً للمعادلة التالية:

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = \frac{\text{معدل النمو الفطري في المقارنة} - \text{معدل النمو الفطري في المعاملة}}{100} * 100$$

معدل النمو الفطري في المقارنة

### اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر الممرض

تم تنفيذ هذا الاختبار وفق الخطوات التالية

#### 1-تحضير لقاح البكتريا *Bacillus subtilis*

تم الحصول على عزلة البكتريا من مختبر أمراض النبات- كلية الزراعة / قسم وقاية النبات .جامعة بغداد من قبل دكتور كامل سلمان جبر ونشطت بتنميتها على الوسط الزرعي Nutrient Broth

#### 2-تحضير لقاح البكتريا *Pseudomonas fluorescens*

تم الحصول على عزلة البكتريا من مختبر الأحياء المجهرية كلية العلوم النبات -قسم علوم الحياة / جامعة بابل ونشطت بتنميتها على الوسط الزرعي N.B

3-تحديد التركيز الفعال للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و البكتريا *Bacillus subtilis* المثبط لنمو الفطر الممرض تم استعمال تراكيز مختلفة من عالق البكتريا P.S, B.S كل على انفراد (1، 10، 25، 50%) وذلك بإضافة حجم معين من العالق البكتيري (*Pseudomonas fluorescens* 4×10<sup>7</sup> ، *Bacillus subtilis* 2×10<sup>7</sup> /cfu مل ) ويعمر 5 أيام إلى حجم معين من الوسط الزرعي PDA المعقم بجهاز المؤسدة لمدة 20 دقيقة والمبرد تم صب الوسط في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم وبعد إن تصلب الوسط لقتح الأطباق في مركزها بقرص من النموات للفطر *R. solani* بعمر 7 أيام حضنت الأطباق واستعملت ثلاث أطباق لكل معاملة كمكررات وتركزت 3 أطباق بدون إضافة كمقارنة أخذت النتائج بعد وصول قطر مستعمرة معاملة المقارنة إلى حافة الطبق بحساب معدل القطرين المتعامدين سم وحساب نسبة التثبيط بحسب معادلة المذكورة في الفقرة السابقة.

### تأثير المبيد الكيميائي Beltanol وبعض العوامل الإحيائية في نسبة وشدة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية

عقمت تربة مزيجية بغاز بروميد المثل، وتركت لفترة 15 يوم قبل الاستعمال. بعدها وزعت في أصص بلاستيكية قطر 12.5 سم وبمعدل 1 كغم / أصيص وتم اجراء المعاملات التالية:1- الفطر ( Rh2 ) *R. solani* بمفرده . 2- الفطر *R. solani* + المبيد الكيميائي Beltanol . 3- الفطر *R. solani* + الفطر *T. harziaunim* (TH) . 4- الفطر *R. solani* + البكتريا *Pseudomonas fluorescens* (PS) . 5- الفطر *Bacillus subtilis* (BS) . 6- المقارنة بدون إضافة الفطر الممرض . 7- الفطر الإحيائي TH بمفرده . 8 - بكتيريا PS بمفردها . 9- بكتيريا BS بمفردها . 10- المبيد الكيميائي Beltanol بمفرده. أضيف لقاح الفطر *R. solani* محملاً على بذور الدخن المحلي الى المعاملات جميعها التي تتطلب ذلك وبنسبة (1 %) (وزن / وزن) . وأضيف المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز (1 مل / لتر) ، وذلك بعد يوم من إضافة لقاح الفطر الممرض [26]، تم إضافة لقاح الفطر *T. harzianum* محملاً على نخالة الحنطة ( استعملت طريقة تحميل لقاح الفطر *Rhizoctonia* نفسها ماعدا استعمال نخالة الحنطة كوسط للتحميل بدل بذور الدخن المحلي) وبمعدل 1% (وزن/وزن)، وبعد أسبوع تم إضافة لقاح الفطر الممرض. اما بالنسبة لمعاملات البكتيريا فقد تم اضافتها بمعدل 25 مل / أصيص وذلك قبل ثلاثة أيام من إضافة الفطر الممرض. زرعت التربة بمعدل 5 بذور خيار محلي / الاصيص. ووضعت بالظلة الخشبية التابعة للكلية التقنية المسيب. أستعمل التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات لكل معاملة وتمت متابعة التجربة وسقيها كلما دعت الحاجة. وأخذت النتائج بعد 60 يوم من الزراعة بحساب النسبة المئوية للنباتات المصابة بمرض تعفن جذور الخيار في كل معاملة وتم حساب شدة الإصابة اعتماداً على الدليل المرضي التالي: 0 = النباتات سليمة. 1 = 1 - 25% من مساحة سطح الجذر متعفن. 2 =

أكثر من 25 – 50% من مساحة سطح الجذر متعفن 3 = أكثر من 50 - 75 % من مساحة سطح الجذر متعفن. 4 = أكثر من 75-100% من مساحة سطح الجذر متعفن دون موت النبات. 5 = موت النبات . وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة وفق معادلة الاتية:

$$\text{النسبة المئوية لشدة الإصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0 \times 0) + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 1 \times 1) + \dots + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 5 \times 5)}{\text{مجموعة النباتات المفحوصة} \times 5} \times 100$$

وتم قياس أطوال ووزن النباتات الطري والجاف .

### النتائج والمناقشة:

### نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار وعزل وتشخيص الفطر الممرض من جذور النبات المصابة

أظهرت نتائج المسح الحقلية لبعض حقول نباتات الخيار في محافظة بابل انتشار مرض تعفن الجذور في جميع الحقول التي شملها المسح وقد تراوحت النسبة المئوية للإصابة ما بين 77.7-100% (جدول 2) وسجلت أعلى إصابة في حقول منطقة الطاهرية التي بلغت 100% و أقل إصابة في منطقة السدة والتي بلغت 77.7% ويعزى سبب انتشار المرض بهذه النسبة إلى زراعة محصول الخيار بصورة متكررة في نفس الحقول وملائمة الظروف البيئية أدى ذلك إلى تراكم لقاح الفطريات الممرضة خاصة الأجسام الحجرية Sclerotia التي تبقى في التربة لمدة طويلة، وقد يكون السبب هو الاختلاف في العمليات الزراعية وفي نوع وطريقة إضافة الأسمدة هذه العوامل كلها قد أثرت في النباتات وجعلتها أكثر حساسية للاستجابة للممرضات النباتية. وتم عزل وتشخيص عدة أجناس من الفطريات من جذور نباتات الخيار المصابة بمرض تعفن الجذور بالاعتماد على الأعراض الظاهرة المتمثلة باصفرار الأوراق وضعف النبات وظهور تقرحات على قواعد السيقان. وكان أكثر أنواع الفطريات الممرضة تكراراً هو الفطر *R. solani* الذي تم عزله من جميع المناطق التي شملها العزل وهذه النتائج تتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي أجريت على نباتات عده والتي سجلت أن الفطر *R. solani* من المسببات الرئيسية لمرض تعفن الجذور في مناطق مختلفة من العراق [26، 27، 28].

### اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *R. solani* باستعمال بذور اللهانة

أظهرت النتائج (جدول 3) إن جميع عزلات الفطر *R. solani* سببت انخفاض معنوي في النسبة المئوية للإنبات بصورة متفاوتة إذ تتراوح ما بين 0-8 قياساً بمعاملة المقارنة بدون فطر التي بلغت النسبة المئوية للإنبات فيها 100% وهذه النتائج تتفق مع ما وجدته الجبوري [26] من إن معظم عزلات الفطر *R. solani* المختبرة أحدثت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات بذور اللهانة إذ حققت بعض العزلات خفضاً في النسبة المئوية إلى الصفر مقارنة بمعاملة المقارنة التي كانت فيها نسبة الإنبات (95)%. وما توصلت إليه كريم [24] من اختلاف عزلات الفطر في قدرتها الامراضية وخفضها للنسبة المئوية للإنبات بذور اللهانة.

الجدول 2: النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور نباتات الخيار

| ت | الموقع                | النسبة المئوية للإصابة |
|---|-----------------------|------------------------|
| 1 | السدة                 | 77.7                   |
| 2 | قضاء المحاويل/ البدعة | 80.0                   |
| 3 | طريق أبو الجاسم       | 100.0                  |
| 4 | الطاهرية              | 100.0                  |

الجدول 3: الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *R. solani* باستعمال بذور اللهانة

| العزلات            | % للإنبات |
|--------------------|-----------|
| Rh2                | 0.00      |
| Rh1                | 1.33      |
| Rh3                | 5.33      |
| Rh4                | 8.00      |
| المقارنة           | 100.00    |
| L.S.D عند مستوى 5% | 4.201     |

*R. solani* = Rh1 = عزلة منطقة السدة، Rh2 = عزلة منطقة البدعة Rh3 = عزلة منطقة أبو الجاسم Rh4 = عزلة منطقة الطاهرية

### تأثير عزلات الفطر الممرض *R.solani* في نباتات الخيار

بينت نتائج الجدول 4 ، إلى إن عزلة الفطر الممرض Rh2 قد أحدثت خفضاً معنوياً في معدل النسبة المئوية لإنبات بذور الخيار إذ منعت إنبات البذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة بدون فطر والتي كانت نسبة إنباتها 100% وجاءت النتيجة مطابقة لنتائج التجربة السابقة حيث منعت العزلة إنبات بذور اللهانة التي تعد من العوامل النباتية الحساسة للفعل الإنزيمي للفطر الممرض. كما سببت العزلة Rh1 خفضاً معنوياً بنسبة الإنبات بلغت 16.7%. ويعزى سبب مقدرة هذا الفطر على إحداث هذه النسبة إلى آلياته المختلفة المعروفة كإفراز الإنزيمات المحللة لخلايا العائل وإفراز المادة الايضية ذات التأثير السام الذي يؤدي إلى قتل الجنين و قتل الإنبات [29].

الجدول 4 : تأثير عزلات الفطر الممرض *R. solani* في النسبة المئوية لنباتات الخيار

| العزلة             | % للإنبات |
|--------------------|-----------|
| المقارنة           | 100.0     |
| Rh1                | 16.7      |
| Rh2                | 0.0       |
| L.S.D عند مستوى 5% | 6.66      |

### اختبار المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي بلتانول والفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *R. solani* على الوسط الزراعي PSA

أوضحت النتائج في الجدول 5 ، التضاد بين الفطر الإحيائي *T. harzianum* وعزلة الفطر الممرض *R. solani* (Rh2) ان الفطر الإحيائي ذو قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض إذ حقق قدرة تضادية بلغت 2 حسب السلم الذي وضعه Bell وآخرون [23] وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما توصل إليه نتائج العديد من الباحثين [24، 25، 28] والتي أشارت إلى قدرة الفطر *T. harzianum* في تثبيط النمو الفطري للفطريات الممرضة في الوسط الزراعي PDA ومنها الفطر الممرض *solani* و يرجع ذلك إلى امتلاك الفطر الإحيائي العديد من الإنزيمات المحطمة لجدران الخلايا الفطرية مثل إنزيمات B-1,3-chitinase و glucanas أو قد يرجع إلى التطفل المباشر وذلك بالتغاف الغزل الفطري للمقاوم الإحيائي *T.harzianum* حول الفطر الممرض أو من خلال اجتماع هذه الآليات كالتطفل على الغزل الفطري وإفراز المضادات الحياتية مثل Trichodermine و Viridene و Demadine و Gliotoxine و Acetaldehyde والتنافس على الغذاء والمكان [12، 13]. وبينت نتائج الجدول 5، إن المبيد الكيميائي بلتانول ذو كفاءة وفعالية تثبيطية عالية ضد الفطر الممرض *R. solani* إذ كان معدل نمو الفطر 0 سم والنسبة المئوية للتثبيط 100% والتي اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة بدون مبيد والتي كان معدل نمو الفطر فيها 9 سم والنسبة المئوية للتثبيط 0 وهذه النتيجة تتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي أثبتت إن المبيد الكيميائي بيلتانول له نسبة مئوية تثبيطية مقدارها 100% ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزراعي PSA [24، 25].

الجدول 5 : المقدرة التضادية للفطر *T.harzianum* والمبيد الكيميائي بلتانول في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الوسط الزراعي

| المعاملة    | قطر المستعمرة/ سم | % للتثبيط الفطر |
|-------------|-------------------|-----------------|
| بلتانول+Rh2 | 0.00              | 100.0           |
| Rh2+T.h     | 2.27              | 74.8            |
| Rh2 بمفرده  | 9.00              | 0.0             |
| LSD (5%)    | 0.30              | 3.25            |

### اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزراعي PSA

أظهرت نتائج الجدول 6 ، قدرة البكتريا *B. subtilis* على تثبيط عزلة الفطر الممرض *R.solani* بتركيز 10% على الوسط الزراعي PSA وقد بلغ معدل النمو الفطري لعزلة الفطر الممرض صفراً قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9 سم وبلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط الفطر الممرض 100% ويعزى سبب ذلك إلى قدرة البكتريا على النمو بصورة سريعة ومن ثم انتشارها على الوسط الزراعي PSA ثم تثبيط الفطر الممرض وكذلك يعود السبب إلى قدرة البكتريا على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل bacillomycin , bacitracin , subtiline والتي تقوم بتثبيط نمو الفطر الممرض [30] وجاءت هذه النتيجة مطابقة للعديد من الدراسات التي أثبتت قدرة بكتريا *Bacillus subtilis* على تثبيط نمو الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزراعي [31، 32]. كذلك أظهرت نتائج الجدول 6 قدرة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* على تثبيط عزلة الفطر الممرض *R.solani* بتركيز 10% على الوسط الزراعي PSA وقد بلغ معدل النمو الفطري لعزلة الفطر الممرض *R. solani* 0 سم قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9 وبلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط الفطر الممرض 100% ويعزى سبب قدرة بكتريا



الجدول 7: تأثير بعض العوامل الاحيائية والمبيد الكيماوي Beltanol في نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار وبعض معايير نمو النبات

| المعاملات  | % للإصابة | % شدة الإصابة | طول النبات / سم | الوزن الطري / غم | الوزن الجاف / غم |
|--|-----------|---------------|-----------------|------------------|------------------|
| الفطر ( Rh2 ) <i>R. solani</i> بمفرده                      | 100.0     | 100.0         | 0.00            | 0.00             | 0.0              |
| الفطر Rh2 + الفطر <i>T. harziaunim</i> (TH)                | 46.7      | 28.0          | 71.61           | 33.67            | 7.3              |
| الفطر Rh2 + البكتيريا <i>Pseudomonas fluorescens</i> (PS). | 53.3      | 32.0          | 68.33           | 31.67            | 7.0              |
| الفطر Rh2 + <i>Bacillus subtilis</i> (BS)                  | 33.3      | 24.0          | 75.33           | 34.00            | 7.4              |
| الفطر Rh2 + المبيد الكيماوي Beltanol                       | 13.3      | 5.3           | 90.67           | 37.53            | 8.0              |
| المقارنة بدون اضافة الفطر الممرض                           | 0.0       | 0.0           | 109.33          | 41.3             | 9.0              |
| الفطر الاحيائي TH بمفرده                                   | 0.0       | 0.0           | 116.67          | 42.67            | 9.3              |
| بكتيريا PS بمفردها   | 0.0       | 0.0           | 114.67          | 41.67            | 9.2              |
| بكتيريا BS بمفردها   | 0.0       | 0.0           | 122.33          | 43.33            | 9.4              |
| المبيد الكيماوي Beltanol                                   | 0.0       | 0.0           | 113.33          | 41.33            | 9.1              |
| L.S.D. (عند مستوى الاحتمالية 0.05)                         | 12.44     | 12.4          | 4.24            | 1.23             | 0.54             |

#### المصادر:

- 1- حسن، احمد عبد المنعم . 1991 . انتاج المحاصيل . الدار العربية للنشر والتوزيع جمهورية مصر العربية . 711 ص.
- 2- المجموعة الاحصائية السنوية 2010. الجهاز المركزي للإحصاء. وزارة التخطيط. العراق.
- 3- طه، خالد حسن. 1990. المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضروات الوعائي المتسبب عن الفطر *Verticillium dahlia* اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- 4- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> Ed. Elsevier Inc. USA. 998 pp.
- 5- Marshal, D.S. 1982. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum cocentratum on damping off of snap bean in acidic soil. Plant Dis. 66: 788 – 789 .
- 6- Cartwright, D. K.; and D. M. Benson. 1994. Effect of population dynamics of *Pseudomonas Cepacia* and *Paecilomyces lilacinus* on colonization of polyfoam rooting cubes by *Rhizoctonia solani* Compant, S.; B. Duffy; J. Nowak; C. Clement; and E. Actbarka . 2005. Use of plant growth promoting bacteria for bio control of plant diseases: principles, mechabism of action and future prospects. Applied and Environmental Microbiol. 71(9): 4951 – 4959.
- 7- Benson, D.M.; and J.R. Burns. 2000. Biocontrol of damping off *Catharanthus roseus* caused by *Pythium ultimum* with *Tricoderma virens* and binucleate *Rhizoctonia solani* .Plant Dis. 84: 644 – 648.
- 8- Johansson, P. M.; L. Johansson; and B. Gerhardson. 2003. Suppression of wheat – seedling disease caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. Plant Pathology, 52: 2, 219-227.
- 9- - Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. M. Elad , E. Fisher and A. Dinoor . 2002 . Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanism of disease suppression. Phytopathology 92 : 976 – 985 .
- 10- ابو عرقوب، محمود موسى. 2000. المقاومة الحيوية لامراض النبات. المكتبة الاكاديمية، القاهرة. 684 ص.
- 11- Morsy, E.M. 2005. Role of growth promoting substance producing microorganism on tomato plant and control of some root rot fungi. Ph.D. Thesis, Fac. Of Agric. Ain shams Univ., Cairo.
- 12- Harman, G. E. 2006. Overview of Mechanisms and uses of *Trichoderma* spp Phytopathology 96:190-194.
- 13- Howell, C. R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology 96: 178-180.
- 14- Haas, D.; C. Keel; and C. Reimann. 2002. Signal transduction in plant-beneficial rhizobacteria with biocontrol properties. Antonie Leeuwenhoek, 81 : 385-395 .
- 15- Ryu, C. M.; M.A. Farag; C.H. Hu; M.S. Reddy; J.W. Kloepper; and P.W. Pereg, . 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis Plant Physiol., 134: 1017-1026



- 16- Ramos, A. d. S., S. B. Fiaux and S. G. F. leite. 2008. Production of 6-Pentyl-x-Pyrone by *Trichoderma harzianum* in solid-State fermentation. Brazilian J. of Microbiol. 39:712-717.
- 17- Ulker, S., A. Ozel, A. Colak and S. AlPay Karaoglu. 2011. Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* isolated from soil. Turk. J. Biol. 35:1-8.
- 18- Parmeter , J. R. 1970 . *Rhizoctonia solani* : Biology and pathology . Berkeley , Univ. of California Press . 255 pp .
19. Sneh,B.,S.J.Hare,S.Neate,andG.Dijst.1996. *Rhizoctonia* species Taxonomy ,Molecular, Ecology, Pathology and Disease Control ,Kluwer academic publisher ,Dordrecht the nether land.580 pp.
- 20 - Blazier , S. R. and K. E. Conway . 2004 . Characterization of *Rhizoctonia solani* Isolates Associated with Patch Diseases on Turfgrass . Proc. Okla. Acad. Sci. 84 : 41 – 51 .
- 21- 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.210 pp.
- 22- Bolkan, H.H.; and E.E. Butler. 1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 64: 513 – 522.
- 23- Bell , D. K. , H. D. Well , and G. R. Markham . 1982 . In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant Pathogens. Phytopathology . 72 : 379 – 382 .
- 24- كريم ، فاطمة هادي. 2012. عزل وتشخيص المسببات الفطرية لتعفن جذور الباميا والتكامل في مقاومتها بمحاظة بابل . رسالة ماجستير . كلية التقنية – المسيب.
- 25- الموسوي، محسن عبد علي محسن.2012. تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء ومقاومة بأستعمال بعض عوامل الاستحثاث الكيميائية والاحيائية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 26- الجبوري ، حرية حسين شهاب . 2002. تأثير استخدام معيق النمو كلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على إصابة نباتات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير . كلية الزراعة - جامعة بغداد .
- 27- العيساوي ، نياي عبد الواحد فرحان . 2006 . عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقي ومقاومتها بالطرق الإحيائية والكيمياوية. رسالة ماجستير . الكلية التقنية- المسيب .
- 28-جعفر، علا هادي . 2011 . المقاومة الإحيائية والكيميائية لمرض ذبول اللوبيا المتسبب عن الفطرين *Rhizoctonia solani* Kuhn و *Fusarium solani* (Mart) Sacc . رسالة ماجستير. الكلية التقنية- المسيب.
- 29- Weinhold , R. W. and B. S. Sinclair . 1996 . *Rhizoctonia solani* : Penetration, colonization , and host response . In *Rhizoctonia* species taxonomy, molecular , biology , ecology , pathology , and disease control . ( eds ) Sneh , B. , S. J. Hare , S. Neate , and J. Dijst . Kluwer acad. Publishers , Dordrecht the Nether Land . 163 – 174 .
- 30- Montealegre, J. R.,R . Rodrigo , P . M . Luz , H . Rodrigo , S.Polyana , and B . Ximena . 2003 . Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. J. Biotec. 6 : 115-127.
- 31- Muhammad, S. and A. Amusa . 2003 . In-vitro inhibition of growth of some seedling blight inducing Pathogens by compost-inhabiting microbes. Journal of Biotechnology. 2 : 161 –164.
- 32- 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.
- 33- الجبوري ، صبا باقر خلف. 1998. اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على محصول القطن، الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض الخناق *Rhizoctonia solani* . رسالة ماجستير . كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 34-الجميلي ، سامي عبد الرضا وضياء سالم علي الوائلي . 2000 . تقييم كفاءة سلالة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ( pf.5 ) في مقاومة الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium graminearum* على الحنطة . مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 13 : 137 – 146 .
- 35- Meister, R. T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for " Beltanol ". Willouhg by OH. 86 : 45p.
- 36-Howell, C. R. .2003. Mechansim employed by *Trichoderma* species in the Biological control of plant disease: the history and evolution of current concepts . Plant Dis. 87: 1 -9.