مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 4 سنة 2011

عزل وتشخيص الفطريات الممرضة المتواجدة على شتلات اللبخ *Aibizia sp.* ومكافحتها إحيائيا باستخدام عزلتين من فطر *Trichoderma sp.*

سولاف حامد تيموز
جامعة القادسية /كلية العلوم/ وحدة أبحاث البيئة

احمد صباح كاظم — **جامعة القادسية /كلية العلوم**
لمى فؤاد منحر — **جامعة القادسية /كلية التربية**
لجين إبراهيم حسين — **جامعة القادسية/ كلية العلوم**

الخلاصة ..

استهدف البحث التعرف على الفطريات التي تصيب شتلات واحدا من النباتات المهمة والذي يشكل جزءا مهما من ثروتنا الوطنية وأحد نباتات الزينة التي تضفي مظهرا جميلا في المكان الذي تتواجد فيه نظرا لضخامتها وكبر حجمها وهو نبات اللبخ *Aibizia sp* والتي تسببت في تدهور تلك الشتلات إذ تضمن البحث عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة على الشتلات المصابة والمتواجدة في التربة التي زرعت فيها الشتلات وكذلك تم إجراء المكافحة الاحيائية لهذه الفطريات مختبريا وبالنوعين من الفطر *Trichoderma sp.* وأوضحت النتائج الخاصة بعزل وتشخيص الفطريات ظهور مجموعة من الفطريات الممرضة والمتمثلة *Alternaria alternate , Alternaria teunissima , Rhizoctonia solani , Pythium aphanidermatum , Aspergillus niger , Aspergillus fumigates , Aspergillus terrus , Curvularia sp.* , *Fusarium oxysporum , Fusarium solani , Penicillium italicum* , والتي تتواجد في الأجزاء المصابة والتي عملت على تلف انسجة الشتلات ، اما الفطريات المتواجدة في التربة التي تنمو فيها الشتلات فشملت الفطريات المعزولة أعلاه كذلك بينت النتائج أيضا إن استخدام نوعي الفطر المضاد.*Trichoderma sp* قد اظهرا قدرة تضادية كبيرة تجاه الفطريات الممرضة وبمعدلات متفاوتة قياسا بمعاملة السيطرة .

المقدمة ..

ينتمي نبات اللبخ إلى العائلة البقلية ويضم جنس اللبخ أنواعا كثيرة تصل إلى 150 نوع في العراق وتزرع منها في العراق حوالي 12 نوع تنتشر في مناطق مختلفة من القطر ومن المركبات الفعالة التي يمكن استخراجها من نبات اللبخ هي الزيوت التي تستخرج من الأوراق والأغصان الفتية والتي يمكن تقسيمها الى ثلاث أنواع هي : زيوت طبية ، زيوت صناعية ، زيوت عطرية ويتعرض نبات اللبخ كغيره من النباتات الى العديد من الأمراض والآفات ومنها الفطريات مثل *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* (9) والتي تؤدي الى تهديد وجود هذا النبات الذي يعتبر من النباتات المهمه في القطر حيث يشكل جزأ مهما من الثروة الوطنية كونه يستخدم لأغراض التشجير وتوسيع رقعة الغابات في العراق وكذلك زراعتة كنبات زينه . ونظرا لإصابة شتلات هذا النبات في مناطق مختلفة من محافظة القادسية بتدهور وموت الشتلات في بعض مشاتل المدينة فقد جاءت هذه الدراسة لعزل وتشخيص الفطريات التي تصيب الشتلات وكذلك الفطريات المتواجدة في التربة التي تزرع فيها الشتلات وتحديد شدة الإصابة وأيضا دراسة إمكانية استخدام الأحياء المضاده في المكافحة الإحيائية للفطريات الممرضة مختبريا .

المواد وطرائق العمل ..

1- النباتات المستخدمة : تم جلب نماذج الشتلات المصابة من عدد من المشاتل في مدينة الديوانية (مركز المحافظة) والنماذج الأخرى جلبت من الأقضية الأخرى والتي تعتبر من المشاتل التي تمول الكثير من المناطق بشتلات هذا النبات ، كما تم جلب عينات من التربة المستخدمة لنقل وزراعة الشتلات .

جدول (1) عينات من النباتات والترب المزروعة فيها

رقم العينه	المكان
1	(قضاء الديوانية) مركز المحافظة
2	قضاء الشامية
3	قضاء الحمزة
4	قضاء عفك

2 .الفطريات المضادة المستخدمة :تم استخدام كل من الفطر *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma lignorum* في اختبار التضاد تجاه الفطريات الممرضة المعزولة.

3. عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة على الشتلات : تم عزل الفطريات المتواجدة على أوراق وسيقان الشتلات باستخدام أطباق بتري حاوية على وسط بطاطا – دكستروز – أكار (PDA) حيث تم اخذ العينات من المناطق المصابة بعد التعرف عليها بأستخدام المجهر التشريحي حيث تم تقسيم هذه الأجزاء الى مجموعتين المجموعة الأولى تم تعقيمها سطحيا وذلك بغمرها لمدة ثلاث دقائق بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% بعدها غسلت الأجزاء بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وجففت على ورق نشاف معقم ، ثم وزعت هذه الأجزاء على أطباق بتري ،باستخدام ملقط معقم وبواقع 5 أجزاء لكل طبق وبمسافات متساوية بعضها عن بعض وحضنت تحت درجة حرارة 25 مْ اما المجموعة الثانية فتم غسلها بماء مقطر وتجفيفها على ورق نشاف معقم ثم وزعت على أطباق بتري وبعد 7 ايام تم تشخيص الفطريات من خلال الصفات المجهرية والزرعية التي اوردها (7) كذلك تم تسجيل نسبة الأصابة وشدة الأصابة على الأجزاء جميعها ، اذ وضع مكررين لكل عينة من الأجزاء النباتية من كل منطقة .وتم عزل وتشخيص الفطريات في التربة التي تنمو فيها الشتلات : استخدم الوسط الزرعي بطاطا – ديكستروز – أكار (PDA) لعزل الفطريات المرضية من التربة وحسب ماجاء بطريقة (10)، حيث عملت ثلاث تخافيف من عينة التربة وهي(10^3 ، 10^4 ، 10^5) وتم زراعتها على الوسط (PDA) وسجلت الأعداد كوحدات تكاثر /غم تربة ، وبعد الحصول على المستعمرات النقية للفطريات تم تشخيصها من خلال ما ورد من صفات مظهرية ومجهرية وزرعية في(7)

4. اختبار تأثير الأحياء المضادة في نمو الفطريات المرضية اختبار Bell (ظاهرة التضاد):استخدمت في هذا الأختبار اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي(PDA) ثم لقح مركز النصف الأول من الطبق بقرص من مزرعة الفطر الممرض وبعمر 7 أيام قطر القرص (0.5) سم باستخدام الثاقب الفليني المعقم ولقح مركز النصف الثاني للطبق نفسه بقرص من الفطر المضاد بنفس القطر والعمر وبواقع ثلاث مكررات لكل فطر سواء كان معزولا من التربة او من النبات.

اما بالنسبة لمعاملة المقارنة فقد تم تلقيح كل مركز من نصفي الطبق بقرص من الفطر الممرض.وضعت جميع الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ºم وتم تسجيل النتائج بعد 7 ايام من الحضن وقد اعتمد المقياس الذي استخدمه (8) والمكون من خمسة درجات لحساب المساحة التي يحتلها كل من الفطر الممرض من جهة والكائن المضاد من جهة أخرى وكما يلي :

الكائن المضاد يغطي كل الطبق (1)
الكائن المضاد يغطي3/4 الطبق (2) س
الكائن المضاد يغطي 1/2 الطبق (3)
الكائن الممرض يغطي 3/4 الطبق(4)
الكائن الممرض يغطي كل الطبق (5)

وقد حسبت النتائج على ضوء المعادلات التالية :

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد مرات ظهور الفطر في العينات الكلية}}{\text{عدد العينات الكلي}} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات الفطر}}{\text{عدد العزلات الكلية لجميع الفطريات}} \times 100$$

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{عدد الأجزاء المصابة بالفطر}}{\text{العدد الكلي للأجزاء المدروسة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة ..

1 - تشخيص الفطريات الممرضة وتحديد نسبة شدة الإصابة لكل جزء نباتي:
يوضح الجدول (2 - A) نسبة الإصابة وشدة الإصابة بالأجناس الفطرية التي تم عزلها من الشتلات المصابة غير المعقمة سطحيا ويتضح من الجدول وبأستخدام فرضيات كوخ دلت النتائج على أن نسبة الإصابة بالفطر *Aspergillus niger* كانت عالية قياسا بالفطريات الأخرى ، وان شدة الإصابة بالفطر *Aspergillus niger* وصلت نسبتها 100% والفطر *Rhizopus stolanifer*الذي ظهر على الجذور بنسبة 70% بينما كانت نسبة الاصابة على السيقان والاوراق بنسبة 90% كذلك كانت نسبة الاصابة بالفطر *Alternaria alternata* ظهر على الجذور80%بينما كانت نسبة لشدة الاصابة على السيقان 60%وقد ارتفعت نسبة شدة الاصابة للفطر على الورقة الى 100% .كما ان شدة الإصابة بالفطر *Fusarium oxysporium* والذي ظهر على الجذور وقواعد السيقان مشكلا شدة اصابة بنسبة 20% ومما لوحظ ارتفاع نسبة الاصابة الى 70% وكذلك الحال مع الفطر *Rhizoctonia solani* والفطر *Aspergillus terrus* والفطر *Aspergillus fumigatus* اللذان ظهرا على الجذور والسيقان والاوراق فقد كانت النسب متفاوتة . الا ان الفطر *Pythium aphanidermatium* قد شكل اقل نسبة اصابة بالمقارنة مع الفطريات الاخرى . وهذا يتفق مع ما جاء به (11).

جدول (2) الفطريات المتواجدة على الجذور وقاعدة الساق والاوراق غير المعقمه سطحيا

الفطر	شدة الاصابة %			نسبة الاصابة %
	الجذر	قاعدة الساق	الورقه	
Penicillium italicum.	30	10	50	23.1
Fusarium oxysporium	20	20	70	65.4
Fusarium solani	30	50	30	38.8
Rhizopus stolanifer	70	90	90	82.7
Rhizoctonia solani	20	30	0	22.6
Aspergillus niger	100	100	100	98.3
Aspergillus terrus	50	20	40	43.7
Aspergillus fumigatus	60	20	30	30.5
Alternaria alternata	80	60	100	77.9
Alternaria teunissima.	40	30	40	23.5
Pythium aphanidermatium	10	10	0	18.1

اما فيما يتعلق بالاجناس الفطرية التي تم عزلها من الاجزاء المعقمه سطحيا اذ يبين الجدول (2 - B) ظهور عدد من الفطريات المرضية متمثلة بأعلى نسبة شكلها الفطر *Aspergillus niger* والتي كانت نسبة الإصابة للأجزاء النباتية 95 % يليه جنس *Fusarium solani* والذي تواجد على الجذور والسيقان والاوراق ونسبة اصابة 60% كذلك كانت نسبة الاصابة بالفطر *Alternaria alternate* 50 % . من ذلك نستنتج ان الاختلاف في معدلات اعداد الفطريات اعطى الفطر *Aspergillus niger* والفطر *Rhizopus stolanifer* والفطر *Alternaria alternate* اعلى نسبة اصابة سواء كانت في الاجزاء المعقمه او غير المعقمه ودليلا على ذلك لوحظ ان هناك مجموعة من الفطريات قد استمرت بتواجدها حتى بعد عمليات التعقيم للاجزاء النباتية وقد شكلت نسبة خطورة عالية . اذ لوحظ ان هناك مجموعة من الشتلات تموت بمجرد ظهور البراعم الورقية نتيجه لتواجد فطر *Alternaria alternate* الذي يقوم بإفراز انزيماته السامة التي تمنع الخلايا النباتية من النمو والانقسام وبالتالي يذبل النبات ويموت. (1 ، 5)

جدول (3) الفطريات المتواجدة على الجذور وقاعدة الساق والأوراق المعقمة سطحيا

الفطر	شدة الإصابة %			نسبة الإصابة %
	الجذر	قاعدة الساق	الورقة	
Rhizoctonia solani	20	40	0	30
Aspergillus niger	100	100	100	95
Alternaria alternata	10	30	60	50
Fusarium solani	50	100	50	60
Aspergillus nidulans	40	0	10	25

2 – حساب معدلات اعداد التكاثر للأجناس الفطرية المعزولة من تربة الشتلات :

يوضح الجدول (4) انواع الاجناس الفطرية التي عزلت من ترب الشتلات ، اذ يلاحظ تواجد مجموعة من الفطريات التي تم عزلها من المجموع الخضري والمجموع الجذري والتي أصابت الشتلات اذ حسبت الكثافة اللقاحية (معدلات اعداد وحدات التكاثر) للفطريات في التخفيف 10^3 اذ شكل الفطر *Aspergillus niger* معدل (88.3)خلية / غم يليه الفطر *Penicillium italicum.* وبمعدل (76.7) خلية / غم اذ يعدان هذان الفطران من الفطريات الشائعة في التربة والتي تعتبر مأوى لكثير من الفطريات الرمية التي بمجرد توفير الظروف الملائمه من حرارة ورطوبة ستتكيف معها وتصبح ممرضة للنبات . كذلك هناك تفاوت بأعداد الوحدات التكاثرية للفطريات وكما موضحة في جدول (4) .ان الاختلاف في معدلات اعداد التكاثر واضح جدا يمكن الاستلال علية من من الكثافة اللقاحية الموجودة في التربة والمتمثلة بأعداد الكونيدات التي تمثل الفطر.وهذا ماكده (5 ، 6) .

جدول (4) الفطريات المتواجدة في تربة الشتلات

نوع الفطر	معدل أعداد وحدات التكاثر غم/ تربة
Penicillium italicum	72.7
Fusarium oxysporum	54.8
Fusarium solani	52.2
Aspergillus niger	88.3
Alternaria alternata	15.5
Pythium aphanidermatium	19.2
Rhizoctonia solani	4.6

3- تأثير الأحياء المضادة على نمو بعض من الفطريات المرضية :

اختيرت مجموعة من الفطريات المرضية والتي تم عزلها من الشتلات ومن التربة والتي لوحظ تواجدها على الشتلات والتربة من التحليل الإحصائي للنتائج التي ظهرت في الجدول (5) نلاحظ وحسب سلم التقييس الخماسي لـ--- . Bell et al وجماعته (1982) ان الكائن المضاد كان له تأثيرا كبيرا على عزلات الفطريات عند الفحص في الأطباق وكما موضحة في الجدول (5) ادناه :

جدول (5) تأثير الاحياء المضادة على نمو الفطريات الممرضة بعد 7 ايام من الحضن (ظاهرة التضاد)

نمو الفطريات على الوسط PDAالزرعي	المعاملات (الأحياء المضادة)		
	المقارنة(الفطر الممرض فقط)	*T.harzianum*	*T.konangi*
Rhizoctonia solani	9 a	b1	b1.2
Aspergillus niger	9 a	a 1.3	cd 2.3
Fusarium solani	9 a	b1.5	b1.8
Alternaria alternata	a9	1 b	b1.6
Pythium aphanidermatium	a9	b1.6	b1.3
Penicillium italicum	a9	b1.4	b1

تظهر نتائج الجدول (5) ان لنوعي الفطر المضاد تأثيرا معنويا في خفض معدل نمو الفطريات الممرضة بعد سبعة ايام من فترة الحضانه ويرجع ذلك الى ان لهذا الفطر القدرة على افراز مواد سامة للفطريات وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (11) من ان الفطر *T.harzianum* ينتج مواد ايضيه سامه للفطريات المرضية وهي Trichodermin و Trichodermol وصبغات الانثراكينون ، كذلك فان لهذا الفطر قابلية التنافس على الغذاء والتطفل على الاحياء الاخرى وهذا يتفق مع ماذكره طه (1) من ان خيوط الفطر *T.harzianum* له قدرة التطفل على خيوط الفطر *Rhizoctonia solani* وتتفق ايضا مع ما وجده (3) من الفطر *T.harzianum* له قدرة تضادية عالية ضد الفطر *Pythium aphanidermatium* المسبب لمرض تعفن الجذور وايضا يتفق مع (4) في الدراسة التي اجريت لأختبار القدرة التضادية للفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *Alternaria alternate* .كذلك اظهرت نتائج *Trichoderma harzianum* والفطر*T.konangi* ضد تعقد الجذور وفطر الذبول *Fusarium solani* وقد اعطى الفطران المضادان كفاءة عالية في خفض شدة الإصابة وهذا مادرسه (5) .وقد اشارت نتائج الجدول (5) فيما يتعلق بكلا الفطرين *Aspergillus niger* و *Penicillium italicum* فقد لوحظ ان للفطر *Trichoderma* القدرة على تثبيط نمو الفطرين الممرضين اذ اظهرت النتائج فروقا معنوية عالية في خفض نمو الفطر الممرض بالمقارنة بمعاملة السيطرة . وهذا يتفق مع ماذكره (8).

المصادر ..

1. طه ، موسى ابراهيم (1988) المكافحة الحيوية لتعفن جذور الباقلاء .اطروحة ماجستير – كلية العلوم –جامعة صلاح الدين . اربيل – العراق .
2. مجيد سامي ومحمود مهند(1988) النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي .مجلس البحث العلمي – مركز بحوث علوم الحياة – قسم العقاقير وتقييم الادوية ، الطبعة الاولى ص(72 – 73) .
3. شريف ، فياض محمد ، جمال طالب الربيعي ، علي حسين البهادلي ومنعم عبد الرزاق تويج (1988) ، مكافحة حيوية وكيميائية لمرض خياس طلع النخيل في الحقل . المؤتمر العربي الثالث لعلوم وقاية النبات . جامعة الامارات العربية المتحدة . الامارات العربية المتحدة ، ص 55 .
4. سرحان ، عبد الرضا طه ، وماجد هزاع البياتي(1991) التضاد لحيوي للفطر *Alternaria alternata* بأستخدام بعض الفطريات والبكتريا . مجلة العلوم الزراعية . 22 (1) : 206 – 215 .
5. اسطيفان ،زهير عزيز ومحمد حسن وهناء محمد الزهروان وباسمة جورج انطوان وماركو شموئيل كوركيس(1996) تأثير نيماتودا تعقد الجذور وفطر الفيوزاريوم على الجذور الطماطة ومكافحتها احيائياً وكيميائياً .مجلة الزراعة العراقية .1(1) ص71-79ك.1996.
6. سرحان ،عبد الرضا طه وماجد كاظم الشبلي (2000)المكافحة الحيوية للفطريات الممرضة المرافقة لبذور الرز .المؤتمر السابع لعلوم وقاية النبات 22-26ت1/ أكتوبر .

7. Domsch ,k .h .,Gams, w. and Anderson, t .h. 1980. Compendium of soil fungi. (vol. 1) academic press. A subsidiary of Harcourt brace Jovanovich ,publish. ers.lonon.

8 . Bell, D .K., wells, H.O. and Markham, C.R .1982 . in vitro antagomism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens .Phytopathology 72 :379-382.

9. Guest , E . and Al –Rawi, A . 1966 . Flora of Iraq. Vol .I Ministry of Agriculture , Republic of Iraq .

10. Cappuccino , J . G . and Sherman , N ., 1987. Microbiology a laboratory manual Benjamin Cumming publishing CO . Inc. California . Amsterdam . Sydney .

11 . Ishikawa , H ., OK. T. and Kiriyama , H ., 1976 . The function of antifungal compound prepared by some *Hypocrea* species to wood rotting fungi . Review of plant .

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 4 سنة 2011

Isolation , Identification and Biological control of Pathogenic fungi of *Aibizia sp.* By the used of two isolations from fungus *Trichoderma sp*.

Sulaf. H. Teamooz.
AL_Qadisyia university/College Sciences

Ahmad .S.K **Luma .F.M** **Lujin .I .H**
AL_Qadisyia Uuniversity **AL_Qadisyia Uuniversity**
AL_Qadisyia Uuniversity
College sciences **College education**
College sciences

Abstract

This study aims to identifications from path fungi which infect one of the important plants in our country because it have prosperous morphology in place when found it for big & high volume , this plant called *Aibiza* sp. The fungi causes damage for these plant This search include isolate and diagnosis fungi are founding in infected plant which found in soil agriculture plant in it and also bio treatment was done , from these fungi in vitro in two types of *Trichoderma* sp. , the result from isolate and diagnosis fungi show appear from path fungi group represented *Alternaria alternate* , *Alternaria teunissima* , *Rhizoctonia solani* , *Pythium aphanidermatum* , *Aspergillus niger* , *Aspergillus fumigates* , *Aspergillus terrus* , *Curvularia sp.* , *Fusarium oxysporium* , *Fusarium solani* , *Penicillium italicum* found in infection part of plant , while foundation fungi in soil that plant grow include the fungi isolate before . and the result was shown using two types of *Trichoderma* sp. Able to inhabitation path fungi for different range compared with control treatmeant.