------مجلة علوم الرافدين، المجلد 24، العدد 5، ص16-37، 2013------

تأثير بعض أنواع المبيدات الإحيائية الفطرية والبكتيرية في موت بادرات وتعفن جذور الباميا في البيت الزجاجي

نجوى بشير اللشي
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل
E-mail: najwab_2012@yahoo.com

(تاريخ الاستلام 9 / 12 /2012 ؛ تاريخ القبول 18 / 3 / 2013)

الملخص

أدى استخدام المبيدين الإحيائيين *Trichoderma harzianum* و *T.viride* بصورة منفردة او بشكل خليط مع المستحضرين البكتيريين *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* إلى حدوث تثبيط معنوي في نمو الغزل الفطري للفطريات المسببة لسقوط بادرات وتعفن جذور الباميا *Abelmoschus esculentus* L.. وحدث أعلى تثبيط مع خليط *T.harzianum* و*P.fluorescence* الذي أدى إلى منع نمو الفطرين *Macrophomina phaseolina* و*Rhizoctonia solani* بنسبة 100 %. وتفوقت معاملة البذور بخليط المبيدات الاحيائية على المعاملات المنفردة وكان أعلاها *T.harzianum* و*P.fluorescence* في التربة الملوثة بالفطر *M.phaseolina* اذ حققت خفضا" معنويا" في نسبة الإصابة بسقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة وكذلك في زيادة طول المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف للنبات. إن استخدام المبيدات الاحيائية المنفردة أو بشكل خليط في معاملة البذور أدى الى ارتفاع مستويات انزيمات Peroxidase و وPolyphenol oxidaes مما يدل على تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة في نبات الباميا ضد الفطريات الممرضة. وازداد الارتفاع عند المعاملة بخليط المبيدات الإحيائية، وقد لوحظ حدوث أعلى نشاط إنزيمي مع الفطر *T.harzianum* والبكتريا *P.fluorescence* اذ بلغ 2.813/ و 0.185/ دقيقه/ غم وزن رطب في الترب الملوثة بكل من الفطرين *F.solani* و*M.phaseolina*.

الكلمات الدالة: موت بادرات الباميا، المبيدات الاحيائية، *Trichoderma harzianum*، *Trichoderma viride*، *Pseudomonas fluorescens*، *Bacillus subtilis*.

Effect of some Kinds of Fungal and Bacterial Biopesticides for the Control of Damping-off and Root Rot Fungi of Okra Seedlings in the Greenhouse

Najwa B. Al-Lashi
Department of Biology
College of Science
University of Mosul

ABSTRACT

Fungal biopesticides preparations *Trichoderma harzianum, T.viride* individually or in combination with the bacterial biopesticides *Pseudomonas fluorescens* or *Bacillus subtilis* showed a significant inhibition to the mycelial growth of fungi causing damping-off and root-rot of okra seedlings *Abelmoschus esculentus* L.. The maximum inhibition of the growth of fungal colonies was recorded with a mixture of *Trichoderma harzianum* + *Pseudomonas fluorescens* which caused complete inhibition (100%). Seed treatment with a mixture of biopesticides proved to be superior than individual treatments in reducing the infection of damping –off disease significantly and increasing the length of shoots and roots and dry weight of the plant. The use of biofungicide preparations individually or in mixture raised the levels of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes indicating the induction of systemic resistance of okra plants against fungi causing damping- off and root-rot disease. A highest enzyme activity was noticed with *Trichoderma harzianum* + *Psedomonas fluorescens* in soil contaminated with *F.solani* or *M. phaseolina* and reached 2.823 and 0.185/min./g fresh weight respectively.

المقدمة

تستخدم انواع الفطر *Trichoderma* spp. بنجاح بوصفها مبيدات فطرية بسبب نموها السريع ومقدرتها العالية على التكاثر ومكافحة مدى واسع من الامراض الفطرية وامتلاكها آليات مكافحة احيائية متنوعة بالإضافة الى قدرتها على التنافس في المحيط الجذري وتحملها و/أو مقاومتها للمبيدات الفطرية، ولها القابلية على المعيشة تحت الظروف غير الملائمة وتمتاز بكفاءتها في استغلال مغذيات التربة وهي ذات ضراوة عالية تجاه الفطريات الممرضة للنبات فضلا" عن تحسينها لنمو النبات وكذلك امتلاكها تنوعا" جينيا" عاليا" (Vinale *et al.*, 2006). تعد أنواع الـ *Trichoderma* spp. أكثر أنواع الفطريات المستخدمة كعوامل في المكافحة الاحيائية وقد تم تصنيع مستحضرات تجارية منها بوصفها مبيدات حيوية فطرية Biofungicides وأسمدة حيوية Biofertilizer وكمخصبات للتربة Soil ammendments (Harman, 2006). ان معظم وسائل المكافحة الاحيائية للمسببات الممرضة للنبات تستعمل بوصفها عوامل احيائية منفردة وكأعداء حيوية لمسبب مرضي واحد وربما يعد ذلك مسؤول جزئيا" عن الأداء المتناقض لمستحضرات المبيدات الإحيائية، بأن العامل الإحيائي المنفرد قد لا يكون فعالا" تحت كافة الظروف البيئية في التربة التي تستخدم فيها أو ضد

جميع أنواع المسببات المرضية التي تهاجم النبات العائل. وتبقى مكافحة مدى واسع من المسببات المرضية من قبل الأعداء الحيوية المستخدمة هدفا يصعب تحقيقه على الدوام بعامل حيوي واحد. وغالبا ما يكون استخدام خليط من العوامل الإحيائية محاكي للواقع الفعلي لبيئة التربة وربما يوسع مجال نشاط الأعداد الحيوية ضد مدى واسع من المسببات المرضية ويزيد من كفاءة المكافحة الحيوية (Duffy *et al*., 1996). وأشارت الدراسات السابقة إلى أن خليط عوامل المكافحة الإحيائية لمسببات أمراض النبات يتضمن خليط من الفطريات والبكتريا (De Boer *et al*., 1997) أو خليط من البكتريا (Schisler *et al*.,1997) أو خليط من الفطريات، (Budge *et al*.,1995). وفي دراسة أجراها اللشي ومحمود (2013) تم اختبار كفاءة مستحضرات المبيدات الإحيائية البكتيرية مختبريا" في تأثيرها على نمو الفطريات المسببة لسقوط بادرات الباميا وفي البيت الزجاجي. هدفت هذه الدراسة الى تقييم كفاءة أربعة مستحضرات تجارية لعوامل إحيائية فطرية *Trichoderma harzianum* و *T.viride* وبكتيرية *Pseudomonas fluorescence* و *Bacillus subtilis* بصورة منفصلة وبشكل خليط لمكافحة الفطريات المسببة لسقوط بادرات الباميا وتعفن جذورها وتأثيرها في معايير نمو النبات.

مواد وطرائق العمل

تأثير مستحضرات المبيدات الاحيائية الفطرية *T.harzianum* و*T.viride* في نمو الفطريات الممرضة مختبريا: تم اختبار تأثير المستحضرات الفطرية في نمو الفطريات الممرضة بأتباع طريقة الدجيلي (2008) وتم الحصول على المستحضرات من أ.د. علي كريم الطائي / كلية الزراعة والغابات والمرسلة من مشروع التسميد العضوي في وزارة الزراعة العراقية لغرض تقييم كفاءتها بوصفها مبيدات إحيائية يتم استخدامها ضد الفطريات الممرضة للنبات والتي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة في كلية التربية-جامعة الموصل (العبيدي، 2007) وتم اختبار قدرتها الامراضية على بذور الصنف المحلي لنبات الباميا، تم اختبار فعالية المستحضرين ضد الفطريات الممرضة المسببة لموت بادرات وتعفن جذور الباميا والمعزولة من نباتات باميا مصابة وهي *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* اذ تم إضافة 0.1 غم من كل مستحضر على حدا إلى أنبوبتين احتوت كل منها على 5/مل ماء مقطر معقم محكمة الغلق، وحضر الوسط ألزرعي Potato Sucrose Agar (P.S. A) لتنمية الفطريات وصب في أطباق بتري معقمة بقطر 8.5 سم، اخذ مقدار 0.1 بوساطة حملة لوب (loop) من كل مستحضر على حدا ولقح بشكل خط في منتصف الطبق وترك لفترة دقيقتين وبعدها اخذ قرصين من كل فطر من الفطريات الممرضة المنمى مسبقاً على وسط P.S.A وبعمر خمسة أيام ووضع كل قرص على جهة من الطبق ووضع المبيد الحيوي في المنطقة الفاصلة بين القرصين والبالغة 4 سم وحضنت الأطباق على درجة 25±2 م ولمدة سبعة أيام حسب

نمو الفطريات الممرضة. أما معاملة المقارنة فقد استخدم ماء مقطر معقم بدلا" من مستحضر المبيد الحيوي. تم حساب قطر المستعمرات الفطرية وحساب النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة التالية:

$$\%\text{التثبيط} : \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعاملة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times 100$$

تأثير معاملة بذور الباميا بالمبيدات الإحيائية وخليطها في نسبة وشدة الإصابة بسقوط البادرات وفي مواصفات نمو النبات

أجريت تجربتان في البيت الزجاجي التابع لقسم علوم الحياة/ كلية العلوم، اشتملت التجربة الأولى على المعاملات المنفردة بتعقيم بذور الباميا (صنف محلي) سطحيا بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم 1% لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت بعدها بوساطة ورق ترشيح معقم. أما التربة فقد عقمت بجهاز المعقام لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة 121° سليزية وضغط 1.5 جو ووضعت التربة المعقمة في سنادين بلاستيكية سعة 1 كغم. لوثت التربة المعقمة بالفطريات الممرضة *M.phaseolina* و *R.solani* و *F.solani* كل على حدا وبواقع 1/4 طبق بتري /كغم تربة بعد تقطيعه بخلاط كهربائي مع كمية مناسبة من الماء المقطر المعقم وخلطه مع التربة بشكل متجانس، وسقيت التربة بالماء لمدة خمسة أيام قبل الزراعة (Lo *et al*., 1998).

عومات بذور الباميا (صنف محلي) بأخذ 1غم من كلا مستحضري المبيد الفطري *T.harzianum* و *T.viride* كل على حدا وإذابته في 100 ملم ماء مقطر معقم نقعت البذور في المعلق البوغي لكلا المستحضرين تركيز 1×10^6 بوغ / مل لمدة ساعة مع إضافة الصمغ العربي لكلا المستحضرين كمادة لاصقة بنسبة 2%. جففت البذور بعد ذلك بتعريضها للهواء لمدة نصف ساعة ثم زرعت مباشرة بالتربة (Abd-El-Kareem *et al*., 2004)، نفذت المعاملات التالية:

1- زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.
2- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.
3- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.
4- زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطر *R.solani*.
5- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani*.
6- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani*.
7- زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطر *F.solani*.
8- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani*.
9- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani*.
10- زراعة بذور غير معاملة في تربة معقمة.

11- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.harzianum* وزراعتها في تربة معقمة.

12- معاملة البذور بالمبيد الاحيائي *T.viride* وزراعتها في تربة معقمة.

زرعت بذور الباميا بواقع 15 بذرة/ أصيص وبثلاث مكررات / معاملة وتم حساب النسبة المئوية للإصابة بموت البادرات قبل وبعد ظهورها بعد أسبوعين وأربعة أسابيع من الزراعة على التوالي. وبعد أربع أسابيع من الزراعة تم حساب شدة الإصابة لتعفن الجذور تبعا لطريقة Wheeler (1970) والمكونة من اربع درجات وهي 0= بادرات سليمة 1= بادرات حية ولكنها مصابة بتعفن الجذور2 =موت بادرات قبل الظهور 3=موت بادرات بعد الظهور وتم حساب شدة الإصابة حسب المعادلة التالية:

$$\text{شدة الإصابة} : \frac{\text{مجموع عدد البادرات حسب درجتها}}{\text{العدد الكلي لأعلى درجة}} \times 100$$

كما تم حساب متوسط طول المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف.

اما التجربة الثانية فقد تضمنت استعمال خليط المبيدات الاحيائية الفطري والبكتيري بإتباع نفس الطريقة المذكورة في التجربة الأولى. فقد تم تعقيم البذور سطحيا" وتم تلويث التربة بالطريقة المذكورة سابقا. أما معاملات بذور الباميا (صنف محلي) فقد تم اخذ 0.5غم من المبيد الاحيائي الفطري والبكتيري كلا" على حدا وأذيب في 100 مل ماء مقطر معقم بحيث يكون تركيز المعلق الفطري(10^6بوغ/مل)، تم حساب التركيز بإتباع طريقة التخافيف Dilution Plate Method وباستخدام شريحة عد الابواغ Haemocytometer والبكتيري بتركيز (10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل) وحسب تركيزه باتباع طريقة التخافيف ثم يتم نشر 1 مل من التخفيف على وسط PSA ثم حساب عدد المستعمرات الحية النامية على الوسط. ثم مزجت كميات متساوية من كلا المعلقين مع بعضهما ونقعت البذور في المعلق لمدة ساعة مع إضافة الصمغ العربي بنسبة 2% كمادة لاصقة. جففت البذور لمدة 30 دقيقة بتعريضها للهواء ثم زرعت مباشرة في التربة (Abd El-Kareem *et al*., 2004) اشتملت المعاملات على ما يأتي:

1- زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*

2- معاملة البذور بخليط المبيدين *T.harzianum* +*P.fluorescens* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.

3- معاملة البذور بخليط المبيدين *B.subtilis* و*T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.

4- معاملة البذور بخليط المبيدين *P.fluorescens* و *T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.5- معاملة البذور بخليط المبيدين *B.subtilis* و*T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*.6- زراعة التربة في تربة ملوثة بالفطر *R.solani*.7- معاملة البذور بخليط المبيدين *P.fluorescens* و*T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani*.8 - معاملة البذور بخليط

المبيدين *B.subtilis* و*T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani* .9 – معاملة البذور بخليط المبيدين *P.fluorescens* و*T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani* .10- معاملة البذور بخليط المبيدين *B.subtilis* و*T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *R.solani* .11- زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .12- معاملة البذور بخليط المبيدين *P.fluorescens* و*T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .13- معاملة البذور بخليط المبيدين *B.subtilis* و*T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .14- معاملة البذور بخليط المبيدين *P.fluorescens* و*T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .15- معاملة البذور بخليط المبيدين *B.subtilis* و*T.viride* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .

زرعت بذور الباميا بواقع 15 بذرة/ أصيص وبثلاث مكررات/ معاملة وتم حساب النسبة المئوية بموت البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة بعد مرور أربعة أسابيع من الزراعة تبعا لطريقة Wheeler(1970). وتم حساب متوسط المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف للنبات لكل معاملة.

تقدير فعالية انزيم البيروكسديز: تم قياس فعالية انزيم البيروكسديز باختبار الكوايكول Guaiacol (Howell *et al*., 2000) يشمل الاختبار تحضير مكونات مزيج التفاعل المكون من:

1- محلول الكوايكول بتركيز 0.05 مولاري. 2- محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 0.02 مولاري. 3- محلول دارك ترس والذي حضر باذابة 1.211 غم مادة ترس مع 14.11 غم كلوريد الصوديوم NaCl مذابة بالماء المقطر واكمل الحجم الى 250 مل واستخدم حامض الهايدروكلوريك1عياري لتعديل الاس الهيدروجيني من 9- 7.5. 4- مزيج التفاعل: خلطت المحاليل السابقة مع الماء المقطر بنسبة 7:1:1:1 على التوالي للحصول على مزيج التفاعل.

تم قياس فعالية الأنزيم باستخدام المطياف Spectrophotometer وذلك بوضع خليط مكون من 3 مل من مزيج التفاعل مع 0.2 مل من مستخلص الجذور الخام في خلية الجهاز ومتابعة التغير الحاصل في امتصاص الضوء عند الطول الموجي 420 نانوميتر وتم تعيير الجهاز باستخدام مزيج التفاعل بدون مستخلص الجذور (Whitakar and Berhard ,1972) وأخذت النتائج بتسجيل القراءات لثلاث مكررات من كل معاملة وتم حساب فعالية الانزيم من المعادلة التالية:

فعالية الأنزيم/ دقيقة/ غم نسيج رطب = $\frac{3 \times \Delta أ}{\Delta ن}$

Δأ= التغير في امتصاص الضوء، Δن=المدة الزمنية المستغرقة للتغيير في الامتصاص

تقدير فعالية انزيم بولي فينول اوكسيديز

اتبعت طريقة Shi *et al.*, (2002) في التقدير وذلك بمتابعة الزيادة الحاصلة في الامتصاص الضوئي وعند الطول الموجي 420 نانوميتر باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer الناتج من أكسدة مادة كاتيكول Catechole كركيزة للانزيم.

يشمل اختبار كاتيكول تحضير مكونات التفاعل المكون من :

1- محلول فوسفات البوتاسيوم الدارئ Potassium phosphate buffer.

2- محلول كاتيكول بتركيز 20 مليمولر.

قيست فعالية الانزيم باستخدام المطياف الضوئي بوضع خليط من ا مل من محلول فوسفات البوتاسيوم الدارئ و 1 مل من المحلول كاتيكول و 1 مل من مستخلص الجذور الخام في خلية الجهاز بعد ذلك تم تسجيل التغيير الحاصل في امتصاص الضوء عند الطول الموجس 420 نانوميتر. أخذت النتائج بتسجيل القراءات لثلاث مكررات من كل معاملة وتم حساب فعالية الانزيم كما ذكر في المعادلة أعلاه.

النتائج و المناقشة

تأثير مستحضري المبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و *T.viride* في نمو مستعمرات الفطريات الممرضة وفي النسبة المئوية للتثبيط:

يتضح من نتائج التحليل الإحصائي للجدول (1) إن إضافة المبيدين الإحيائيين إلى الوسط الغذائي (P.S.A) أدى الى تثبيط معنوي في نمو المستعمرات الفطرية نسبة للمقارنة. وأعطى *T.viride* اعلى تثبيط لمستعمرة الفطر*F.solani* بنسبة 72.93% في حين تفوق المبيد الإحيائي *T.harzianum* في تثبيط نمو الفطرين *M.phaseolina* و *R.solani* بنسبتي 70.58 و 63.52 % على التوالي، اما اقل تثبيط حدث مع الفطر *R.solani* ومستحضر المبيد *T.viride* اذ بلغت 39.99%. من هذا يتضح ان المبيدات الاحيائية تلعب دوراً مهما في تثبيط نمو الفطريات الممرضة وجاءت نتائجنا متوافقة مع عدد من الباحثين إذ أشار (2008) Vinale *et al.*, إلى أن أنواع *Trichoderma* تنتج العديد من المضادات الحياتية بضمنها Gliotoxin و Harzianic acid و Trichoviridine و Viridol وAlamethicins وهذه المضادات تكون مؤازرة عندما ترتبط بالانزيمات المختلفة المحللة للجدار الخلوي وهكذا تحدث تأثيرا "مثبطا" للعديد من المسببات المرضية، علاوة على امتلاكها القدرة على تحليل هايفات المسبب المرضي بإنتاج انزيمات محللة مثل Chitinase و protease و 3 glucanase،B-1 وتعتبر هذه أداة مهمة فعالة لمكافحة أمراض النبات (Viterbo *et al*., 2007).

الجدول 1: تأثير المبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و *T.viride* في نمو مستعمرات الفطريات الممرضة وفي النسبة المئوية للتثبيط*

المبيدات الاحيائية	الفطريات الممرضة	قطر المستعمرة(سم)	النسبة المئوية للتثبيط
T.harzianum	*M.phaseolina*	2.50 F	70.58B
	R.solani	4.40 C	48.23E
	F.solani	3.10 E	63.52C
	المقارنة	8.50 A	G00.00
T.viride	*M.phaseolina*	3.46 D	59.21 D
	R.solani	5.10 B	39.99 F
	F.solani	2.30 G	72.93 A
	المقارنة	8.50 A	G00.00

* المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5%.

وجد عدد من الباحثين قدرة المقاوم الحيوي *T.harzianum* على افراز انزيمات محللة ومضادات حيوية مثل Viridin و Trichoviridine وافراز مواد ايضية غازية مثل Acetaldhyde ذات تأثير تثبيطي في نمو عدد من الفطريات المسببة لذبول جذور السمسم وتعفنها (Harman, 2000) وأشارت الحمداني (2009) الى ان المقاوم الحيوي *T.viride* قد ثبط بكفاءة نمو الفطريات الممرضة *M.phaseolina*، *F.solani* و*R.solani* و *Pythium aphanidermatum* المسببة لموت بادرات اللوبيا وتعفن جذورها يليه المقاوم الحيوي *T.harzianum*. وتوصل(2011) Sharma الى ان 18 عزلة من *Trichoderma* أظهرت كفاءة في اختبار الزراعة المزدوجة في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* وذكر(2002) El-Kafrawy إلى أن عزلات *Trichoderma* و *Gliocladium* ادت الى تثبيط نمو الفطر*R.solani* بنسبة 59.6 – 78.9 %. كما توصلت العبيدي (2007) إلى أن المقاوم الاحيائي *T.viride* أبدى كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطريات الممرضة المصاحبة لبذور الباميا وهي *M.phaseolina* و *F.solani* و *R.solani*.

أجرى Abdel-Kader *et al.*, (2012) تقييما" للعوامل الاحيائية *T.harzianum* و *T.viride* و *B.subtilis* و *P.fluorescens* في تجارب السنادين وأكد كفاءتها في مكافحة مرض تعفن جذور الخيار والطماطة والفلفل المتسبب عن عدد من الفطريات الممرضة منها *M.phaseolina* و*F.solani* و *R.solani* و *F.oxysporum*.

تأثير خليط مستحضرات المبيدات الاحيائية الفطرية والبكتيرية في نمو مستعمرات الفطريات الممرضة في النسبة المئوية للتثبيط :

يلاحظ من النتائج الواردة في الجدول (2) ان الخلط بين المبيدات الفطرية والبكتيرية أحدثت خفضا معنويا" عاليا" في نمو الفطريات الممرضة وفي النسبة المئوية للتثبيط ويلاحظ ان الخلط بين المستحضرين *P.fluorescens + T.harzianum* أحدثت تثبيطا" كاملا" (100%) لنمو مستعمرتي الفطرين *M.phaseolina* و *R.solani* ولم تختلف معاملة *B.subtilis + T.harzianum* و *P.fluorescens + T.viride* عن بعضهما" معنويا" في تثبيط الفطر *M.phaseolina* اذ بلغت نسبتهما 96.40 و 97.60 % على التوالي في حين لم تختلف معاملتي*P.fluorescens +T.viride* و*B.subtilis + T.viride* عن بعضهما معنويا في نسبتي تثبيط الفطر *F.solani* اذ بلغ 83.52 و 82.34 % على التوالي. ويعود سبب زيادة نسب تثبيط الفطريات الممرضة عند استخدام خليط المبيدات الاحيائية المتوافقة إلى إنتاجها لعدد من المضادات الحيوية التي تتآزر مع بعضها عند ارتباطها بالانزيمات المختلفة المحللة للجدار الخلوي للفطريات الممرضة وهكذا تحدث تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد مدى واسع من المسببات الممرضة للنبات يفوق استخدام كلا منها لوحده (Vinale *et al*., 2008).

وتوصل Dev and Dawande (2010) إلى أن المقاومين الإحيائيين *Trichoderma spp*. و *P.fluorescens* تنتج العديد من الانزيمات مثل B-1 ، 4 glucanase وB-1 ، 3 glucanase وبعض عزلات *P.fluorescens* تنتج مواد ايضية ثانوية مثل(2,4-DAPG)2,4-diacetyl ويعد هذا المركب مسؤولا" عن الصفات المضادة للفطريات الممرضة للنبات وأشار Sudhasha *et al*., (2009) الى ان اختبار الزراعة المزدوجة للعوامل الاحيائية الفطرية والبكتيرية *B.subtilis + T.viride* و*B.subtilis + T.harzianum* ضد الفطر *F.oxysporum f.sp.cepae* المسبب للتعفن القاعدي في البصل قد سبب تثبيطا" لنمو الفطر الممرض أعلى من استخدام كل عامل بصورة منفردة ولاحظ أيضا" حدوث خفضا"في انتاج الابواغ الكونيدية والكلاميدية.

الجدول 2: تأثير خليط مستحضرات المبيدات الاحيائية الفطرية والبكتيرية في نمو مستعمرات الفطريـات الممرضة وفي النسبة المئوية للتثبيط *

الفطريات الممرضة	المبيدات الاحيائية	اقطار المستعمرات(سم)	% التثبيط
M.phaseolina	*T.harzianum + P.fluorescens*	0.0	100 A
	T.harzianum + B.subtilis	0.3	96.40 B
	T.viride+P.fluorescens	0.2	97.64 B
	T.viride+ B.subtilis	0.5	94.10 C
R.solani	*T.harzianum + P.fluorescens*	0.0	100 A
	T.harzianum + B.subtilis	1.6	81.17 D
	T.viride+P.fluorescens	1.7	80.00 D
	T.viride+ B.subtilis	1.9	77.64 E
F.solani	*T.harzianum + P.fluorescens*	0.2	97.64 B
	T.harzianum + B.subtilis	0.7	91.76 C
	T.viride+P.fluorescens	1.4	83.52 D
	T.viride+ B.subtilis	1.5	82.34 D
المقارنة	بدون مبيد احيائي	8.5	00.00 F

*المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5%.

تأثير معاملة البذور بمستحضري المبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و *T.viride* في النسبة المئوية لموت البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة وفي شدة الاصابة: يتضح من نتائج الجدول (3) ان معاملات التربة الملوثة فقط بالفطريات الممرضة *M.phaseolina* و*R.solani* و *F.solani* أظهرت أعلى نسبة لموت البادرات قبل ظهورها فوق سطح التربة وأعلاها كانت مع التربة الملوثة بالفطر *F.solani* اذ بلغت 60.33% يليها التربة الملوثة بـ *M.phaseolina* ثم *R.solani* اذ بلغت 42.10 و35.47% على التوالي. أما عند معاملة بذور الباميا بمستحضر المقاوم الحيوي *T.harzianum* فقد تحقق أعلى تثبيط لموت البادرات قبل ظهورها كان أعلاها مع التربة الملوثة بـ *M.phaseolina* اذ بلغ 12% يليه معاملة التربة بـ *R.solani* ثم *F.solani* إذ بلغ 15و25% على التوالي. أما بالنسبة لموت البادرات بعد الظهور فقد أظهرت جميع معاملات البذور بمستحضري المقاوم الحيوي خفضا" معنويا" في نسبة الإصابة نسبة للمقارنة ولم يختلف *T.harzianum* و*T.viride* عن بعضهما معنويا" في نسبة الخفض في معاملة التربة بالفطر *M.phaseolina* اذ بلغت 16.44 و 20% على التوالي وكذلك الحال مع معاملة التربة بـ *F.solani* اذ بلغت 15.12 و18.20% على التوالي. وظهرت أقل شدة إصابة في معاملة تلويث التربة بـ *F.solani*

والبذور المعاملة بـ *T.harzianum* اذ بلغت 0.11 في حين لم تختلف معاملات البذور المتضمنة مستحضر المقاوم الحيوي *T.viride* والتربة الملوثة بـ *R.solani* و*F.solani* عن بعضها معنويا" ولم تظهر اختلافات معنوية للمعاملة الأخيرة عن التربة الملوثة بالفطر *M.phaseolina*.

الجدول 3: تأثير معاملات البذور بالمبيدين الإحيائيين *T.harzianum* و*T.viride* في النسبة المئوية لموت البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة وفي شدة الاصابة *

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	% لموت البادرات		شدة الإصابة
		قبل الظهور	بعد الظهور	
M.phaseolina	1- بذور غير معاملة	42.10B*	36.21 A	0.32 B
	2-بذور معاملة بـ المبيد *T.harzianum*	12.00 G	16.44 C	0.19 D
	3- بذور معاملة بـ المبيد *T.viride*	20.12 F	20.00 C	0.24 C
R.solani	1- بذور غير معاملة	35.47 C	28.40 B	0.43 A
	2- بذور معاملة بـ المبيد *T.harzianum*	15.00 G	10.00 D	0.20 CD
	3- بذور معاملة بـ المبيد *T.viride*	22.16 A	18.00 C	0.18 D
F.solani	1- بذور غير معاملة	60.33 A	33.33 A	0.30 B0.11
	2- بذور معاملة بـ المبيد *T.harzianum*	25.00 E	15.12 C	E0.20 CD
	3- بذور معاملة بـ المبيد *T.viride*	30.20 D	18.20 C	
تربة معقمة	1- بذور غير معاملة بالمبيد	00.00 H	00.00 E	00.00 F
	2- بذور معاملة بـ المبيد *T.harzianum*	00.00 H	00.00 E	00.00 F
	3- بذور معاملة بـ المبيد *T.viride*	00.00 H	00.00 E	00.00 F

*المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5%.

وجاءت نتائجنا متوافقة مع عدد من الباحثين اذ ذكر Yigit and Dikilitas (2007) أن أنواع الترايكوديرما تعد من أكثر الأعداء الحيوية الواعدة في مقاومة الفطريات الممرضة للنبات وتمتلك العديد من الآليات تتضمن التطفل المباشر والتنافس على المواد الغذائية وزيادة جاهزية العناصر الغذائية وإنتاج أنزيمات chitinase و B-1 , 4 glucanase و B-1،3-glucanase والمضادات الحيوية فضلا" عن تثبيط انزيمات الفطريات الممرضة(Viterbo *et al*., 2007 ; Harman, 2006). وتوصل Moradi *et al*., (2012) إلى أن استخدام المقاوم الحيوي *T.harzianum* في معاملة بذور الحمص أدى إلى مقاومة مرض الذبول الفيوزارمي وخفض معنوي في نسبة المرض وشدته. وتمتلك الأعداء الحيوية القدرة على تحليل هايفات

المسبب المرضي بإنتاج انزيمات محللة مثل الكايتينيز Chitinase و Protase و وglucanase 3، B-1 حيث تعمل على تحليل الجدران الخلوية وتثبيط نمو الغزل الفطري وإنبات ابواغ الفطريات الممرضة (Lin *et al*., 2007) كما تمتلك القدرة على انتاج انزيمات Protases التي تعمل على تحليل الأغشية والجدران الخلوية للفطريات الممرضة وتعمل على تثبيط نشاط انزيمات التحليل المائي وهي Exo-gulacturonase و Endo-polygulacturonase التي ينتجها الفطر *Botrytis cinerea* المسبب للعفن الرمادي مما ينتج عنه خفض في شدة الإصابة بالمرض (Elad and Kapat, 1999).

تأثير المعاملة بمستحضري المبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و *T.viride* في مواصفات النبات الخضرية:

بينت النتائج الواردة في الجدول (4) ان جميع المعاملات المتضمنة زراعة البذور في تربة ملوثة بالفطريات الممرضة أعطت أقل مواصفات خضرية بما فيها طول المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف ولم تختلف المعاملات عن بعضها معنويا. أما عند المعاملة بمستحضر كل من*harzianum* و *T.viride* أحدثت جميع المعاملات زيادة معنوية في مواصفات النبات. فبالنسبة لطول المجموع الخضري كان أعلاها مع كل من *T.harzianum* و *T.viride* والزراعة في تربة ملوثة *M.phaseolina* اذ بلغت 18.00 و 16.66 سم على التوالي ولم تختلف الأخيرة معنويا" عن التربة الملوثة بـ *F.solani* والمعاملة بكل من *T.harzianum* و *T.viride* (15.36 و14.10 سم على التوالي). كذلك الحال بالنسبة لطول المجموع الجذري الذي لم تختلف فيه المعاملات الملوثة بالفطريات الممرضة عن بعضها معنويا. أما معاملة البذور بالفطرين *T.harzianum* و *T.viride* فلم تختلف المعاملات عن بعضها معنويا" في زيادة طول المجموع الجذري وكذلك الحال بالنسبة للوزن الجاف. وفي معاملات المقارنة كان أعلى طول للمجموع الخضري مع البذور المعاملة بـ *T.harzianum* والزراعة في التربة المعقمة يليها *T.viride* اذ بلغتا 23.37 و20 سم على التوالي. أما من ناحية طول المجموع الجذري فلم تختلف المعاملتين عن بعضهما معنويا في حين كان الوزن الجاف في معاملة *T.harzianum* اعلى من *T.viride* 1.276 و 1.096 غم على التوالي. وجاءت نتائجنا متوافقة مع عدد من الباحثين فقد وجد Vey *et al*., (2001) إن *Trichoderma* تلعب دورا" في تحفيز نمو النبات ولاحظ حدوث تسريع في الانبات والازهار وزيادة طول النباتات والوزن الطري لنباتات المعاملة وذكرت العبيدي (2007) ان معاملة بذور الباميا بابواغ المقاوم الحيوي *T.viride* مع إضافة الصمغ العربي كمادة لاصقة ادى الى زيادة ارتفاع البادرات وطول مجموعها الجذري والوزن الجاف، كما أشار جبر (2007) الى ان معاملة نبات الكجرات بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina* أدت الى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بمقدار 5.50 و 1.42 غم على التوالي. وذكر Ha (2010) إن مستحضر *Trichoderma* ذو تأثيرات قصيرة الامد في تحفيز مقاومة العائل

ضد المسببات المرضية بالإضافة الى تحسين صفات ونمو المحاصيل النباتية فضلا" عن تأثيراتها طويلة الأمد المتمثلة بخفض لقاح الفطر المسبب للمرض في الحقل.

الجدول 4 : تأثير المعاملة بالمبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و*T.viride* في مواصفات النبات الخضرية

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	طول المجموع الخضري(سم)	طول المجموع الجذري (سم)	الوزن الجاف للنبات(غم)
M. phaseolina	1- بذور غير معاملة 2- بذور معاملة بالمبيد *T.harzianum* 3-بذور معاملة بالمبيد *T.viride*	11.81 FG* 18.00 BC 16.66 CD	9.5 DEF 12.70 BC 11.8 BCD	0.085 D 0.110 C 0.105 C
R.solani	1- بذور غير معاملة 2- بذور معاملة بالمبيد *T.harzianum* 3-بذور معاملة بالمبيد *T.viride*	10.00 G 12.33 EFG 13.24 EFG	9.0 F 12.35 BC 10.00 C-F	0.043 E 0.100 C 0.095 CD
F.solani	1- بذور غير معاملة 2- بذور معاملة بالمبيد *T.harzianum* 3-بذور معاملة بالمبيد *T.viride*	11.40 FG 15.36 CDE 14.10 DEF	9.33 EF 12.00 BCD 11.26 B-F	0.054 E 0.110 C 0.100 C
تربة معقمة	1- بذور غير معاملة بـ المبيد 2- بذور معاملة بالمبيد *T.harzianum* 3-بذور معاملة بالمبيد *T.viride*	13.33 EF 23.37 A 20.00 B	11.96 BCD 17.6 A 16.13 A	0.103 C 1.276 A 1.096 B

*المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5%.

لذا فان المستحضرات المبنية على المادة الفعالة *Trichoderma* تعتبر عوامل مكافحة حيوية نموذجية نسبيا" يمكن ان تساعد المزارعين في خفض نسبة الإصابة وتساهم في زيادة نمو النبات.

تأثير معاملة البذور بخليط المبيدين الاحيائيين الفطري والبكتيري في النسبه المئويه لموت بادرات الباميا وشدة الاصابه بتعفن جذورها :

تشير النتائج الجدول (5) ان الترب الملوثة بالفطريات الممرضة تسببت في موت بادرات الباميا بنسب مرتفعة كان أكثرها مع الترب الملوثة بالفطر *F.solani* غير أن معاملة البذور بخليط مستحضري المبيدين الإحيائيين الفطري والبكتيري، كان له الأثر الواضح في خفض النسب المئوية لموت البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة. وقد أدت معاملة البذور بخليط *T.harzianum* و *P.fluorescens* وزراعتها في تربه ملوثة بالفطر *M.phaseolina* الى خفض معنوي عال في نسب موت البادرات قبل وبعد الظهور بلغت 3.33 % و 2.25 % على التوالي. ولم تختلف معاملتي *B.subtilis* و*T.harzianum* و *T.viride*

و*P.fluorescense* عنها معنويا في نسبة الخفض في موت البادرات قبل الظهور وبعده وعن نفس معاملات الفطر *R.solani* أيضا. كما لم تختلف معاملتي الفطر *F.solani* المتضمنة *T.harzianum* و*P.fluorescens* و*T.viride P.fluorescens* بعضها معنويا" في خفض نسبة الإصابة بموت البادرات قبل الظهور وبعده. ان معاملات البذور بالمبيدات الاحيائية في تربة ملوثة بالفطريات الممرضة *M.phaseolina* و *R.solani* و *F.solani* لم تختلف عن بعضها معنويا" في خفض شدة الإصابة نسبة لمعاملات المقارنة المتضمنة تربة ملوثة فقط، وذكر Sudhashe *et al*., (2009) ان معاملة البذور بخليط العاملين الفطري والبكتيري *T.viride* + *B.subtilis* حقق أعلى نسبة خفض للإصابة بمرض التعفن القاعدي في البصل المتسبب عن الفطر *F.oxysporum* f.s.p. *cepae* وتوصل Yigit and Dikilitas (2007) الى مكافحة مرض الذبول الفيوزاريومي في الطماطة المتسبب عن الفطر *F.oxysporum* f.s.p. *lycopersici* باستخدام خليط *T.harzianum* و سلالة غير ممرضة من *Fusarium* و*P.fluorescens* في ظروف البيت الزجاجي، اذ اعطى الخليط اعلى مقاومة للمرض بلغت 70.2 % وأشار Morsy *et al*., (2009) الى ان معاملة بذور الطماطة بخليط *T.viride* و*B.subtilis* أعطت خفضا معنويا لنسبة الإصابة بتعفن الجذور و ازدياد نسبة النباتات المتحملة للإصابة والى زيادة حاصل الثمار ومحتوى النبات من العناصر الكبرى مقارنة بالمعاملات المنفردة بكل منها. وأوضح CaI *et al*., (2004) إن خليط العاملين الاحيائيين *B.subtilis* و*T.harzianum* أحدث خفضا" معنويا" في نسبة وشدة الإصابة مقارنة بالمعاملات المنفردة وان آلية تأثير *B.subtilis* و*T.harzianum* في المسببات المرضية ربما تعزى الى مهاجمتها وتقييد الكائنات الدقيقة الممرضة بواسطة الآصرة السكرية وتبدأ في إفراز انزيمات Protease و lipase. كما أظهرت البحوث توافق استخدام سلالات الترايكودرما مع العوامل الاحيائية البكتيرية فقد وجد Wahid (2006) ان استخدام خليط العوامل الحيوية يعطي نتائج أفضل كما لو استخدم كل منها بمفرده. وبين Rini and Sulochana (2007) ان استخدام المقاوم الاحيائي *T.viride* و *T.harzianum* يتوافق مع المقاوم البكتيري *P.fluorescens* وتسبب في ايقاف موت بادرات الطماطة معنويا". وحصل Malathi and Sreenivasan (2012) على اقل نسبة من حدوث مرض التعفن القاعدي في البصل المتسبب عن الفطر *F.oxysporum* f.s.p. *cepae* باستخدام خليط من مستحضرات العوامل الاحيائية 12 *P.fluorescens* و27 *P.fluorescens* و *T.harzianum* في ظروف البيت الزجاجي.

الجدول 5: تأثير خليط المبيدين الاحيائيين الفطري والبكتيري في النسبة المئوية لسقوط بادرات الباميا وشدة الإصابة بتعفن جذورها*

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	% موت البادرات		شدة الإصابة
		قبل الظهور	بعد الظهور	
M.phaseolina	بذور غير معاملة	42.1 B	36.21 A	0.32 B
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	3.33 F	2.25 GF	0.06 CD
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	6.66 EDF	5.92 DEF	0.10 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	4.44F	6.24 DEF	0.08 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	10.00 D	8.29 CDE	0.11 C
R.solani	بذور غير معاملة	35.47 C	28.43 B	0.43A
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	4.66 F	3.33 GF	0.07 CD
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	6.12EF	6.25 DEF	0.09 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	4.32F	4.18 EF	0.1 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	8.25 ED	8.88 DC	0.11 C
F.solani	بذور غير معاملة	60.33 A	33.33 A	0.30 B
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	4.12 F	6.00 DEF	0.04CD
	بذور معاملة بـ *T.harzianum*و*B.subtilis*	10.00 D	8.88 DC	0.08 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	6.22 EF	6.00 DEF	0.09 C
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	6.85 EDF	10.30 C	0.10 C
تربه معقمه فقط	بذور غير معاملة بـالمبيد	0.00 G	0.00 G	0.00 D

* المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5 %.

تأثير معاملة البذور بخليط المبيدين الاحيائيين الفطري والبكتيري في المواصفات الخضرية لنبات الباميا :

تشير النتائج الواردة في الجدول (6) إلى أن الترب الملوثة بالفطريات الممرضة أعطت اقل مواصفات للنمو من حيث طول المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف في حين أعطت معاملة البذور بخليط مستحضرات المبيدين الاحيائيين الفطري والبكتيري أعلى مواصفات خضرية. ولم تختلف معاملات *T.harzianum* + *P.fluorescens* من جميع الترب الملوثة عن بعضها معنويا في زيادة طول المجموع الخضري اذ بلغت 21.2 و20.7 و 19.53 سم على التوالي. كما انها لم تختلف معنويا عن معاملتي *T.viride* و*P.fluorescens* في الترب الملوثة بالفطر *M.phaseolina* و *T.viride* و*P.fluorescens* كذلك لم تظهر فروقات معنوية بين جميع معاملات *T.viride* و*B.subtilis* في جميع الترب الملوثة بالفطريات الممرضة. وتم الحصول على أطول مجموع جذري من البذور المعاملة بخليط *T.harzianum* و*P.fluorescens* في

كلمن الترب الملوثة بكل من الفطرين *M.phaseolina* و *F.solani*. ولم تختلف معاملات *T.harzianum* و*B.subtilis* عن بعضها معنويا". أما فيما يتعلق بتأثيرها على الوزن الجاف فقد تحقق أعلى وزن جاف عند معاملة البذور بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens* في الترب الملوثة بالفطر *M.phaseolina* اذ بلغ 2.35 غم ولم تظهر فروقات معنوية عن باقي المعاملات الأخرى. وكذلك لم تختلف معاملات البذور المزروعة في الترب الملوثة بـ *R.solani* عن بعضها معنويا في زيادة الوزن الجاف، ولم تختلف عن معاملات البذور بخليط المبيدات الاحيائية في الترب الملوثة بالفطر *F.solani*.

الجدول 6: تأثير خليط المبيدين الاحيائيين الفطري والبكتيري في المواصفات الخضرية لنبات الباميا*

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	طول المجموع الخضري(سم)	طول المجموع الجذري (سم)	الوزن الجاف للنبات (غم)
M.phaseolina	بذور غير معاملة	10.40 E	7.40 HI	0.75 EF
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	21.20 A	19.40 A	2.35 A
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	17.66 BCD	16.33 ABC	1.860 ABC
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	18.80 ABC	17.80 AB	2.25 AB
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	16.66 BCD	12.26 DEFG	1.66 BCD
R.solani	بذور غير معاملة	9.50 E	6.70 I	0.45 F
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	20.70 A	15.50BCD	2.10 ABC
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	17.26 BCD	13.20 C-F	1.916 ABC
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	19.43 ABC	13.63 C-F	2.00 ABC
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	16.66 BCD	11.66 EFG	1.78 A-D
F.solani	بذور غير معاملة	10.23 E	9.53 GHI	0.533 F
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	19.53 AB	16.5 ABC	1.966 ABC
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	15.70 D	13.30 C-F	1.67 BCD
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	17.76 BCD	14.53 B-E	1.780 A-D
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	16.46 CD	14.33 C-E	1.53 CD
تربة معقمة فقط	بذور غير معاملة بـالمبيد	11.50 E	10.56 FGH	1.166 DE

- المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5 %

ذكر Morsy *et al.*, (2009) أن معاملة بذور الطماطة بخليط *T.viride* و*B.subtilis* أدت الى زيادة معنوية في معايير النمو لنبات الطماطة مثل عدد التفرعات وارتفاع النبات والوزن الطري والجاف للنبات وكذلك حاصل الثمار مقارنة بالمعاملات المنفردة وان زيادة معايير النمو تعود الى قابلية العوامل الاحيائية في إنتاج الهرمونات النباتية والفيتامينات والمحتوى النيتروجيني والفسفوري والبوتاسي في النبات وجاهزية العناصر المعدنية بالإضافة إلى دورها المباشر في تثبيط نمو الفطريات الممرضة

(Zaghloul *et al*., 2007). وكذلك بين ان اضافة عوامل احيائية منتخبة (*T.harzianum+B.subtilis*) إما بصوره منفردة او بشكل خليط أعطى زيادة معنوية في عدد الثمار للنبات الواحد ووزن الثمار وكميتها.

تأثير المبيدين الاحيائيين *T.harzianum* و *T.viride* في استحثاث المقاومة الجهارية لنبات الباميا ضد الفطريات الممرضة:

أظهرت نتائج تقدير فعالية الانزيم بيروكسيديز Peroxidase المبينة في الجدول (7) قدرة عاملي المقاومة الاحيائية *T.harzianum* و *T.viride* في استحثاث المقاومة في نبات الباميا من خلال رفع الأنزيم بيروكسيديزاذ تفوقت معاملة البذور بمستحضر *T.harzianum* والترب الملوثة بـالفطر *M.phaseolina* اذ بلغت الفعالية 1.88/ دقيقة / غم وزن رطب تلتها المعاملة بالمستحضر *T.viride* والترب الملوثة بـالفطر *M.phaseolina* إذ بلغت 1.784/ دقيقة/غم وزن رطب. أما اقل فعالية للأنزيم كانت في الترب المعقمة 0.202/ دقيقة/ غم وزن رطب.

الجدول 7: تأثير المبيدات الاحيائية المنفردة في استحثاث المقاومة الجهازية لنبات الباميا ضد الفطريات الممرضة *

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	فعالية انزيم البيروكسيديز / دقيقة / غم وزن رطب	فعالية انزيم بولي فينول اوكسيديز / دقيقة / غم وزن رطب
M. phaseolina	1- بذور غير معاملة	0.373 H	0.111 F
	2-بذور معاملة بـالمبيد *T.harzianum*	1.885 A	0.189 A
	3-بذور معاملة بـالمبيد *T.viride*	1.784 B	0.178 BC
R.solani	1- بذور غير معاملة	0.322 J	0.100 G
	2- بذور معاملة بـالمبيد *T.harzianum*	1.648 D	0.172 CD
	3-بذور معاملة بـالمبيد *T.viride*	1.460 F	0.144 E
F.solani	1- بذور غير معاملة	0.350 I	0.109 F
	2-بذور معاملة بـالمبيد *T.harzianum*	1.682 C	0.180 B
	3-بذور معاملة بـالمبيد *T.viride*	1.598 E	0.166 D
تربة معقمة	1- بذور غير معاملة بـالمبيد	0.202 L	0.094 G
	2-بذور معاملة بـالمبيد *T.harzianum*	1.334 G	0.130 E
	3-بذور معاملة بـالمبيد *T.viride*	1.245 G	0.120 E

* المتوسطات التي تحمل حروفا متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5 %.

وقد ارتفعت فعالية الأنزيم عند المعاملة بـالمبيدين *T.harzianum* و *T.viride* اذ بلغت 1.334 و 1.245/ دقيقة/غم وزن رطب. كما بينت النتائج قدرة كلا من عاملي المقاومة الاحيائية *T.harzianum* و

T.viride في استحثاث المقاومة من خلال رفع زيادة نشاط الانزيم Polyphenol oxidase إذ تفوقت معاملة البذور بالفطر*T.harzianum* والتربة الملوثة بـ*M.phaseolina*الفطر في رفع فعالية الأنزيم إلى 0.189/ دقيقة/ غم وزن رطب تليها المعاملتين *T.harzianum* مع الفطر *F.solani* و*T.viride* مع الفطر*M.phaseolina* (0.180 و 0.178 / دقيقة/غم وزن رطب) على التوالي. إن فطريات *Trichoderma* تلعب دورا" مهما" في تحفيز ميكانيكية الدفاع في النبات فقد وجد (2009) ,.*et al* Jayalakshmi ان المواد الايضية السامة المتطايرة وغير المتطايرة التي تفرزها تعيق استيطان الكائنات الحية الدقيقة المضادة والتي تؤدي إلى تخليق الفايتوالكسينات والبروتينات الدفاعية ومركبات اخرى في النبات ضد المسببات المرضية. ووجد (2005) ,.*et al* Gailite ان معاملة نباتات الفاصولياء بالفطر *T.viride* أدى الى زيادة مستويات المواد الفينولية. وان معاملة بذور القطن بعزلات الترايكودرما لها الأثر الواضح في رفع مستوى انزيم Peroxidase (حميد، 2002). وأشارت الدراسات إلى اقتران الفعالية العالية لهذه الانزيمات مع مستوى عال من المقاومة في النبات اذ يعمل الانزيم بيروكسديز مع بيروكسيد الهيدروجين في تكسير انزيمات المسبب المرضي ومنها انزيم Pectinase من ثم تنشيط عملية تحطيم الجدار الخلوي واستحثاث الفايتوالكسينات فضلا" عن الدفاعات التركيبية لتقوية الجدران مثل بناء اللكنين كما يتفاعل الأنزيم مع بروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار الخلوي (Hibar *et al*., 2007).

تأثير معاملة البذور بخليط المبيدات الاحيائية الفطرية والبكتيرية في استحثاث المقاومة الجهازية لنبات الباميا ضد الفطريات الممرضة :

تبين النتائج الواردة في الجدول (8) ان معاملة البذور بخليط مستحضري المقاوم الحيوي الفطري والبكتيري أدى إلى رفع فعالية انزيم البيروكسيديز وتفوقت المعاملة المتضمنة *T.harzianum* و*P.fluorescens* في الترب الملوثة بـ *F.solani* اذ بلغت 2.813/ دقيقه/ غم وزن رطب، ولم تختلف هذه المعاملة معنويا" عن معاملتي *T.harzianum* و*B.subtilis* و بـ *T.viride* و*P.fluorescens* في الترب الملوثة بـ *F.solani* أيضا وكذلك *M.phaseolina* والبذور المعاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens* اذ بلغت 2.470 و2.330 و 2.470/ دقيقة/ غم وزن رطب، أما اقل فعاليه للانزيم كانت في التربه المعقمة فقط. كما أن معاملة البذور بمستحضر المقاوم الاحيائي الفطري والبكتيري أدى الى رفع انزيم بولي فينول اوكسيديز اذ تفوقت المعاملة المتضمنة *T.harzianum* و*P.fluorescens* في التربة الملوثة بـالفطر *M.phaseolina* في زيادة فعالية الانزيم اذ بلغ 0.195/ دقيقه/غم وزن رطب اما أقل نشاط انزيمي فبلغ 0.0 /92 دقيقة/ غم وزن رطب في الترب المعقمة فقط.

الجدول 8: تأثير الخلط بين المبيدات الاحيائيه الفطرية والبكتيرية في استحثاث المقاومة ألجهازيه لنبات الباميا ضد الفطريات الممرضة*

تربة ملوثة بالفطريات الممرضة	معاملات البذور	فعالية انزيم البيروكسيديز دقيقه / غم وزن رطب	فعالية انزيم بولي فينول اوكسديز دقيقة / غم وزن رطب
M.phaseolina	بذور غير معاملة	0.373 E	0.111 IJ
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	2.470 AB	0.195 A
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	2.153 BCD	0.181 B
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	1.820 CD	0.179 BC
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	2.02 CDE	0.170 CDE
R.solani	بذور غير معاملة	0.320 E	0.100 J
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	1.933 CD	0.168 ED
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	1.840 CD	0.165 EF
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	1.720 D	0.155 FG
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	1.650 D	0.139 H
F.solani	بذور غير معاملة	0.350 E	0.108 IJ
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*P.fluorescens*	2.813 A	0.177 BCD
	بذور معاملة بـ *T.harzianum* و*B.subtilis*	2.470 AB	0.170 CDE
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*P.fluorescens*	2.330 ABC	0.166 E
	بذور معاملة بـ *T.viride* و*B.subtilis*	2.270 BC	0.148 GH
تربة معقمة	زراعة بذور غير معاملة بالمبيد	0.230 E	0.092 J

* المتوسطات التي تحمل حروفا متشابه لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن المتعدد الحدود ولمستوى احتمال 5 % .

أشار Moradi, (2012) إلى أن استخدام المقاومين الاحيائيين *T.harzianum* و*B.subtilis* كل بمفرده او خليطهما معا أديا الى تحسين المقاومة ضد مرض الذبول الفيوزارمي في الحمص عن طريق زيادة نشاط انزيم Glucanase وان هذه البروتينات المرتبطة بالمقاومة تعتبر كمؤشر لاستحثاث المقاومة في النبات. وتوصل De-Boer *et al*., (2003) ان استخدام خليط سلالتين من المقاوم الاحيائي *Psuedomonas putida* نتج عنه مستوى اعلى من الحماية للنبات ضد مرض الذبول الفيوزارمي في الفجل اذ ان السلالة الأولى تعمل على إفراز المادة المخلبية Pseudobactin والثانية تستحث المقاومة الجهازية ضد المرض مما ينتج عنه كبح المرض معنويا بمعدل 50 % عما لو استخدم كل من السلالتين بمفردها (30 %). أما اقل فعالية للأنزيم كانت في التربة المعقمة فقط. من خلال هذا البحث يمكن الاستنتاج بأن استخدام خليط من العوامل الاحيائية الفطرية والبكتيرية تزيد من كفاءة المكافحة الاحيائية عما لو استخدم كل منها بمفرده وذلك للتنوع الواسع في

كائنات المحيط الجذري ومواجهة التغيرات الحيوية والكيميائية والفيزيائية الحاصلة فيها مما ينتج عنه تنوع في النواتج الايضية الثانوية والتي تساهم في كبح المسبب المرضي.

المصادر العربية

الحمداني، نور عبد الحافظ (2009). تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية وطرق مقاومة حيوية وكيمياوية أخرى لمقاومة الفطريات المسببة لموت بادرات وتعفن جذور اللوبيا. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

الدجيلي، ذكرى مهدي (2008). الذبول الفيوزاريومي على بعض نباتات الزينة وطرائق مكافحته. رسالة ماجستير، كلية الزراعه، جامعه الموصل، العراق.

العبيدي، ضحى إسماعيل (2007). تحسين كفاءة المقاوم الحيوي *T.viride* باستخدام السكر المتعدد المايكروبي لمقاومة الفطريات المصاحبة لبذور الباميا. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

اللشي، نجوى بشير؛ محمود، عبير أحمد (2013). المقاومة الحيوية لموت بادرات نبات الباميا باستخدام المبيدين الاحيائيين *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis*. مجلة علوم الرافدين (قيد النشر).

جبر، كامل سلمان (2007). أول تسجيل لمرض التعفن الفحمي على نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa L.* في العراق. مجلة العلوم الزراعية العراقية.**38** ، 52-59.

حميد، فاخر رحيم (2002). دراسة كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma spp.* في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* في أربعة أصناف من القطن. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

المصادر الأجنبية

Abdel-Kader, M.M.; El-Mougy, N.S.; Aly, M.D.E; Lashin, S.M.; El-Mohamady, R.S. (2012). Soil drench with fungicides alternatives against root rot incidence of some vegetables under greenhouse conditions. *Inter. J. Agric. Forest.* **2**(2), 61-69.

Abd-EL-Kareem, F.; Abd-Alla M.A.; Nadia, G.; El- Mougy, N.S. (2004). Lupin Root-rot disease in solarized soil under greenhouse and field conditions. *Egypt. J. Phytopathol.***32**, 49-63.

Budge, S.P.; Mcquiken, M.P.; Fenlon, J.S.; Whipps, J.M. (1995). Use of *Coniothyrium minitans* and *Gliocladium virnes* for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce. *Biol. Control*, **5**, 513-522.

CaI, A.; Sabuqillo, P.; Melgarejo, P. (2004) Biological control of tomato wilts. *Rec. Res. Develop. Crop Sci.*,**1**, 97-115.

De Boer, M.; Van Der Sluis, I.; Vanloon, L.C.; Bakker, M. (1997). *In vitro* compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strain can increase affectivity of *Fusarium* wilt control by combination these strains. in: "Plant Growth-Promoting

Rhizobacteria-Present Status and Future". Prospects. Proc. Int. Workshop on plant Growth-Promoting Rhizobactria, 4th. A. Ogoshi, K. kobayashi, Y. Homma, F. kodama N. Kondo, and S. Akino eds. Nakanishi Printing Supporo, Japan, pp.380-382.

De Boer, M.; Vanloon, L.C.; Peter, A.H.; Bakker, M. (2003). Control of Fusarium wilt of radish by combinig *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanism. *Phytopathology* .**93**, 626-632.

Dev, N.; Dawande, A.Y. (2010). Biocontrol of soil borne plant pathogen *Rhizoctonia solani*using *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas fluoresceus* Asiatic. *J. Biotech. Res.*,**1**, 39-44.

Duffy, B.K.; Simon, A.; Weller, D.M. (1996). Combination of *Trichoderma koningli* with fluorescent *Pseudomonads* for control of take all on wheat. *Phytopathology.* **86**,188-194.

Elad, Y.; Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea. Eur. J. Pl. Pathol*., **105**, 177-189.

El-Kafrawy, A.A. (2002). Biological control of Bean daming off caused by *Rhizoctonia solani, Egypt. J. Agric Res*. **80**, 57-70.

Gailite, A.; Steinite, I.; Ievinsh, G. (2005) Ethylene is involved in *Trichoderma* induced resistance of bean plants against *Pseudomonas syringae*. *Biology*, **691**, 59-70.

Ha, T.N. (2010). Using *Trichoderma* species for biological control of plant pathogens. *Vietnam. J. SSAAS*, **16**, 17-21.

Harman, G.E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology,* **96**,190-194.

Harman, G.E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol derived from research *Trichodermahazianum*T22. *Plant Dis*. **84**, 377-394.

Hibar, K.; Daami, M.; El-Mahjoud, M. (2007). Introduction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum*f. *sp. Radices Lycopersici*by *Trichoderma*s spp. Tunisian, *J. Pl. Protect,* **2**,47-58.

Howell, C.R.; hanson, L.E.; Stipanovic, R.D.; Puckhober, L.S. (2000). Introduction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* seed treatment with *Trichoderma virens. Phytopathology,* **35**, 49-60.

Jayalkshmi, R.; Raju, S.; Usha, R.; Sreeramula, K. (2009). *Trichoderma harzianum*L, as a potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (Cicerarietinum L.) against wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*f. sp. *cicero Aust. J. Crop Sci.***1**, 44-52.

Lin, C.; Yang, J.; Sun, H.; Zhang, K.Q. (2007). Purification and characterization of a B-1,3-glucanase from the novel mycoparasite *Periconiabyssoides*. *Biotechnol. Let*., **29**, 617-622.

Lo, C.T.; Nelsson, E.B.; Hayes, C.K.; Harman, G.E. (1998). Ecological studies of transformed *T. harzianum* strain 1295-22 in the rhizosphere and on phyl-loplane of creeping bentgrass. *Phytopathology*, **88**, 124-136.

Malathi, S.; Sreenivasan, M. (2012). "Biological Control of Onion Basal Rot Disease : Evaluation of Biocontrol Agents and Organic Amendments Against Onion Basal Rot Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae*". LAP LAMBERT Academic Publishing 108 p.

Moradi, H.; Bahman, B.; Jahanshir, A.; Kavch, H.A. (2012). Suppression of chickpea (*Cicerariekinum* L.) Fusarium wilt by *Bacillus subtilis and Trichoderma harzianum. Omics J. POJ.* **5**, 68-74.

Morsy, E.M.; Abdel-KawiK, A.; Khalili, M.N.A. (2009). Efficiency of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis*as biocontrol agents against *Fusarium solani* on tomato plants. *Egypt. J. Phytopathol,* **37**, 47-57.

Rini, C.R.; Sulochana, K.K. (2007). Usefulness of *Trichoderma*and *Pseudomona s*against *Rhizoconia solani*and *Fusarium oxysporum* infecting tomato. *J. Trop. Agric.,* **45**, 21-28.

Schisler, D.A.; Slininger, P.J.; Bothast, R.J. (1997). Effect of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of Fusarium dryrot of potatoes. Phy*topathology*, **87**,177-183.

Sharma, P. (2011). Complexicity of *Trichoderma, Fusarium* interaction and manifestation of biological control. *AJCS*., **8**, 1027-1038.

Shi, C.; Dai, Y.; Xu, X.; Xie, Y.; liu, Q. (2002). The purification of Polyphenol oxidase from tobacco. *Protein Experiment and Purification*. **24**,195-203.

Sudhasha, S.; Usaharani, S.; Udhayakumar, R. (2009). Biological control of onion basal rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae. Adv. Plant Sci.*, **22**,411-413.

Vey, A. Hoagland, R.E.; Butt, T.M. (2001). "Toxic Metabolites of Fungal Biocontrol Agents". In: Butt T.M, Jackson C, Magan, N.(eds) Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential CAB International, Bristol, pp. 311-346.

Vinale, F.; Marra, R.; Scala, F.; Ghisalbert, E.L.; Sivasithamparam, K. (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different photopathogens. *Let. Appl. Microbiol.* **43**,143-148.

Vinale, F.; Sivasthamparam, K.; Ghisalberti, E.L.; Marra, R.; Woo, S.L.; Lorito, M. (2008). *Trichoderma* plant pathogen interaction. *Soil Biol. Biochem*., **40**, 1-10.

Viterbo, A.; Inbar, J.; Hadar, Y.; Chet, I. (2007). "Plant Disease Biocontrol and Induced Resistance via Fungal Mycoparasites." In: Environment and Microbial Relationships 2nd ed. The MycotaIv. (eds. C.P. kubicek and I.s. Druzhinina) Springer- Verlag Berlin Heidllberg, pp.127-146.

Wahid, O.A.A. (2006). Improving control of Fusarium wilt of leguminous plants by combined application of biocontrol agents. *Phytopathol. Mediterr.,* **45**, 231-237.

Wheeler, B.E.J. (1970). "An Introduction to Plant Disease". John Wiley and Sons. Ltd. London, New York, Sydney, Toronto. 374 p.

Whitakar, J.R.; Berhard, B.A. (1972). "Experiments for an Introduction to Enzymology". The Whbier Press, Davis, Calif.

Yigit, F.; Dikilitas, M. (2007). Control of Fusarium wilt of tomato by combination of fluorescent *Pseudomonas*, Non-pathogen *Fusarium* and *Trichoderma harzianum* T22 in greenhouse conditions, *Plant Pathology,* **6**, 159-163.

Zaghloul, R.A.; Neweigy, E.A.; Hanafy, N.A.; Khalifa, N.A. (2007). Application of biofretilization and biological control for tomato production.12th *Conference of Microbiology*, Cairo, Egypt (18-22 March), 198-212.