تقويم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والفطر *Trichoderma viridi* في مكافحة الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina* في نباتات السمسم تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي

Evaluation Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma viridi* in Biological control of *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* in Sesame Plant under Laboratory and Green House Conditions

اسماعيل عباس جديع أياد قحطان وحيد العزاوي*
كلية التربية/ الجامعةالعراقية
* وزاره العلوم والتكنلوجيا

I.A. jdyea Ayad.Q.W.Al-azawy*
College of Education/ Al-Iraqia University
*Ministry of Science and Technology

E-mail: ismail. abbas20@yahoo.com

الملخص

اجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية الفطر (Tv) *Trichoderma viridi* والبكتريا *Pseudomonas fluorescens* (Pf) ضد الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina* في نباتات السمسم تحت ظروف المختبروالبيت الزجاجي. ففي اختبار القدره الامراضيه لعزلات من الفطريين الممرضين على بادرات السمسم , اعطت العزله Rs-1 للفطر *R.solani* نسبه اصابه 100% و80% والعزله Mp-8 للفطر *M. phaseolina* نسبه اصابه 100% و90% في المختبر والبيت الزجاجي على التوالي . في اختبار القدره التضاديه اعطت العزله Tv-4 درجه تضاد 1.2 و1.3 ضد العزلتين Rs-1 وMp-8 على التوالي . ادت العزله Pf-6 الى تثبيط عزلتي الفطرين الممرضين اذ بلغت 100% .عند دراسه تاثير عاملي المكافحه الاحيائيه ضد عزلتي الفطرين الممرضين بطريقه معامله البذور تحت ظروف البيت الزجاجي, اظهرت النتائج تفوق معنوي لكلا العاملين في خفض نسبه الاصابه من 80% في معامله الشاهد الملوث الى 40 و45% لمعاملتي ال Pf وال Tv على التوالي وذلك بعد 60 يوم من الزراعه. انعكس ذلك على معايير النمو الخضري والحاصل اذ ادت الى زياده معنويه في عدد القرنات (3.5 قرنه/نبات) لكلا عاملي المكافحه مقارنه بمعامله الشاهد الملوث (1.8 قرنه/نبات). ادت معاملات عاملي المكافحه الى خفض الكثافه السكانيه للفطرين الممرضين في التربه المعامله بهما.

الكلمات الدالة: مكافحه احيائيه, سمسم, ذبول وتعفن الجذور

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficacy of biological control agents the fungus *Trichoderma viridi* (Tv) and the bacteria *pseudomonas fluorescens (*Pf) against two pathogenic fungi *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* in Sesame plants under the laboratory and the glass house conditions. The pathogenicity test of both pathogen fungi isolates on sesame seedlings were as follow, the Rs-1 for *R.solani* gave incidence percentage of 100% and 80% and isolate Mp-8 for *M.phaseolina* gave 100% and 90% infection under laboratory and green house conditions, respectively. In antagonistic test the Tv-4 isolate gave antagonistic degree 1.2 and 1.3 against the isolate Rs-1 and Mp-8 , respectively . The Pf-6 isolate caused complete inhibition of both pathogen fungi .The study showed superiority of both bio control agents in reducing of incidence percentage from 80% in infested control to 40 and 45 % in Pf and Tv treatments , respectively , after 60 days of planting . These results caused highly increasing in number of pods (3.5 pods / plant) for each of both bio control agents compared with infested control (1.8 pods / plant). Bio control agents treatments has led to reduce the density of the fungi nursing in their treatment.

Key words: Biological control, Sesame, Wilt and root rot

المقدمـــة

يعد السمسم (*Sesamum indicum* L.) أحد اهم المحاصيل الزيتية اذ تبلغ نسبة الزيت في بذوره 45 الى 65% والبروتين 15% اضافة الى الفيتامينات مثل B12 وعنصري الفسفور والكالسيوم [1]. يتعرض المحصول للاصابة بالعديد من الفطريات الممرضة ومن بينها الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina* اللذان يسببان تعفن البذور والجذور وموت النبات في الكامل ويعدان من العوامل المحددة لانتاج المحصول في العالم خاصة وان لهما مدى عائلي واسع[2, 3, 5,4]. وعلى الرغم من ان طرق المكافحة الكيميائية لازالت مستخدمة في معالجة المشاكل الفطرية للمحاصيل الحقلية لفعاليتها السريعة وسعة المساحات المزروعة ومن جهة اخرى غياب التراكيب الوراثية المقاومة [6, 7, 8]ومحدودية فاعلية الطرق الزراعية للمقاومة فان التوجه الان لدى غالبية الدول هو التخلص او التقليل من استخدام الكيمياويات في المعالجة وانفقت مبالغ هائلة في مجال ايجاد عوامل مكافحة احيائية وامكانية استخدامها بشكل سهل التداول ورخيص التكلفة وتوجت هذه الجهود بإنتاج مبيدات احيائية بشكل مساحيق جافة وذات فعالية مؤثرة[9-11]. وفي هذا المجال نالت *البكتريا P.fluorescens* اهتماما واسعا في مجال المكافحة الاحيائية سواء في استخدامها بشكل منفرد او بالتوافق مع عوامل احيائية اخرى كفطريات.*Trichoderma spp* وعزلات من الفطريات غير الممرضة وبطرق معاملة البذور او التربة أو كليهما معا أو استخدامها عن طريق رش المجموع الخضري لاستحثاث المقاومة الجهازية [12-

16]. كما ان فطريات *Trichoderma spp.* استخدمت بنطاق واسع بالمكافحة الاحيائية وضد العديد من الممرضات النباتية وعلى محاصيل زراعية مختلفة [8, 17- 20] . لقد دلت البحوث عن هذين العاملين انهما يعملان بعدة اليات منها المنافسة على الغذاء والمكان وافراز انزيمات محفزة للنمو واستحثاث المقاومة الجهازية والتضاد وزيادة جاهزية العناصر الغذائية [21-23].هدف البحث الى تقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية بشكل منفرد او خليطهما معا في مكافحة الفطرين الممرضين لنباتات السمسم تحت ضروف المختبر والبيت الزجاجي.

المواد وطرائق العمل

1- عزل وتشخيص الفطرين الممرضين

عزل الفطرين الممرضين *R.solani* و *M.phaseolina* من جذور وقواعد سيقان نباتات السمسم في مرحله التفرع التي ظهرت عليها اعراض الذبول ومن اربع مناطق مختلفة من بغداد هي (التاجي,الراشديه, المدائن واللطيفيه) .أخذت قطع صغيرة من الجذور وقواعد السيقان وعقمت سطحيا لمدة 2 دقيقة بمحلول هايبوكلورات الصوديوم النقي (1%) ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرتين وجففت بدورق الترشيح . زرعت 4 قطع / طبق بتري قطر 9سم تحوي الوسط الزرعي PDA. حضنت بدرجة حرارة 27± مْ لمدة اربعة ايام وبعدها نقيت العزلات وشخصت وفق المفاتيح التصنيفية [24, 25] وحفظت بالثلاجة لحين الاستعمال.

2-عزل وتشخيص عاملي المكافحة الاحيائية

جلبت عينات من الترب المحيطة بجذور نباتات السمسم ذات نمو جيد من المناطق المذكوره انفاو استخدمت لعزل عاملي المكافحة الاحيائية وبطريقة التخافيف. أستخدم الوسط kings agar المتخصص لعزل انواع البكتريا *Pseudomans* [9, 23]وشخصت حسب الصفات المزرعيه والكيموحيويه وبحسب [26] وحفظت على الوسط السائل KB . أما عزلات *Trichoderma*فقد عزلت على الوسط الزرعي PDA وشخصت حسب المفتاح التصنيفي [25]. حفظت جميع العزلات في الثلاجة لحين الاستعمال ولفترة محدودة.

3- إكثار عزلات الفطرين الممرضين وعاملي المكافحة الاحيائية

أستخدم وسط زرعي مكون من نخالة الحنطة وجريش كوالح الذرة الصفراء والماء (3: 7 : 3 وزن / وزن / حجم)في قناني زجاجية سعه 100مل بمقدار 50 غم / قنينة , عقمت بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 1,5 كغم / سم^2 لمدة 20 دقيقة , لقحت باقراص قطر 5 ملم من مزارع بعمر اسبوع من عزلات الفطرين الممرضين وكذلك عزلات ال *Trichoderma* كلا على انفراد . حضنت بدرجة حرارة 27± مْ لمدة خمسة ايام اصبحت جاهزة للاستعمال. يحوي 1 غم من لقاح الفطر *Trichoderma* على 3 x 10^9بوغ / غم لقاح جاف تم التقدير باستخدام شريحه عد السبورات Haemocytometer [3] . اما البكتريا فقد استخدمت مادة النشأ المحلي كوسط لتحميلها بعد تعقيمه بالموصدة وتبريده اضيف اليه معلق البكتريا الحاوي على 4 x 10 ^{9} وحدة تكوين مستعمرة / مل مع التحريك يحوي 1 غم من اللقاح الجاف على 3 x 10^9 وحدة تكوين مستعمره تم التقدير بحساب عدد المستعمرات وضربها في مقلوب التخفيف [9].

4- اختبارات القابلية الامراضية للفطرين الممرضين تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي

أ- تحت ظروف المتختبر

نميت الفطريات المعزولة على الوسط الزرعي PDA لمدة اسبوع . نبتت بذور السمسم لمدة 2 يوم على ورق الترشيح المرطب في اطباق زجاجية . اخذت البادرات ووضعت على النمو الفطري في الاطباق وبمعدل 10 بادرة / طبق (5 طبق / عزلة) . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27± مْ لمدة 5 ايام . سجلت نسب الاصابة وشدتها حسب المدرج 0 – 4 وبحسب [5] وكالاتي : 0= بادرات سليمة , 1= الجذور ذات تلون بني واصفرار الفلقتين, 2= الجذور والسيقان ذات تلون بني مع اصفرار الفلقتين, 3 = الجذور والسيقان ذات تلون بني مع نمو غزير للفطر على الفلقتين, 4 = تدهور النبات بشكل كامل اذ تم اختيار 6 عزلات لكل فطر ممرض ومن مناطق العزل المذكوره انفا وتم حساب شده الاصابه حسب المعادله الاتيه [5].

$$\text{شدة الاصابة \%} = \frac{\text{(عدد النباتات من الدرجة 0 x0) + ------ (عدد النباتات من الدرجة 4x4)}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة x اعلى درجة}} \times 100$$

ب- ظروف البيت الزجاجي

استخدمت أصص بلاستيكية سعة 2 كغم تحوي تربة مزيجية مع بتموس (1:2) معقمة بجهاز التعقيم البخاري واعيد التعقيم بعد 24 ساعه (121 مْ وضغط 1,5 كغم / سم ^{2} لمدة ساعة ونصف) . لوثت تربة الاصص بعزلات الفطرين الممرضين بمقدار 1 غم لقاح / كغم تربة من اللقاح لعزلات الفطرين الممرضين المحضر بالفقره 3. كررت كل معاملة 3 مرات مع ترك 3 أصص دون تلقيح للمقارنة . سقيت الاصص بعد التلويث وتركت لمدة 3 ايام ثم زرعت ببذور السمسم (10 بذرة / اصيص) من الصنف المحلي بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1% . بعد اسبوع من بزوغ البادرات سجلت النباتات المصابة قبل وبعد البزوغ تم حساب النباتات المصابة قبل وبعد البزوغ وحسب المعادلات الاتية [5]

$$\text{نسبه الاصابه قبل البزوغ \%} = \frac{\text{عددالبذورغيرالنابته}}{\text{عدد البذور المزروعه}} \times 100$$

$$\text{نسبه البادرات المصابة بعد البزوغ \%} = \frac{\text{عدد النباتات الميته}}{\text{عدد النباتات البازغه}} \times 100$$

5-أختبار التضاد بين عزلات عاملي المكافحة الاحيائية وعزلتي الفطرين الممرضين مختبريا

أستخدمت طريقة الزرع المزدوج بالنسبة لعزلات الفطر *Trichoderma* وذلك بوضع قرص قطره خمسة ملم من كل من عزلتي الفطرين الممرضين المنتخبه سابقا كلا على انفراد وعزلات الفطر *Trichoderma* على طرفي احد اقطار طبق بتري قطره 9 سم يحتوي الوسط الزرعي PDA بواقع 3 مكررات لكل عزلة , حضنت بدرجة حراره 27± مْ وحسبت درجة التضاد حسب المدرج الموصوف من قبل [27]

المكون من خمسة درجات هي : 1= الفطر المضاد يغطي الطبق بكامله , 2 = الفطر المضاد يغطي ثلاثة ارباع مساحة الطبق , 3= الفطر المضاد والممرض كل منهما يغطي نصف مساحة الطبق , 4= الفطر الممرض يغطي ثلاثة ارباع مساحة الطبق , 5= الفطر الممرض يغطي الطبق بكامله والعزلة التي تعطي درجة تضاد 2 فاقل تعتبر عالية التضاد . سجلت النسب المئويه لاصابة الاجسام الحجرية للفطر *Macrophomina* بالفطر Trichoderma وحسب الطريقة المتبعه من قبل[19] وذلك باخذ مسحة بمسافة 2 سم عن منطقه التماس باستخدام شريط لاصق شفاف ولصقها على شريحة زجاجيه وفحصها تحت المجهر على قوة تكبير X 400 وبمعدل 4 حقول / طبق وذلك بحساب عدد الاجسام الحجرية المصابه من مجموع الاجسام الحجرية الكلي وحسب الدليل المرضي المكون من اربع درجات هي 0=سليمه , 1=اصابه خفيفة (1-30%) ,2= اصابة متوسطه (31-50%) , 3= اصابة شديده (51-100%) وحسبت شدة الاصابة وفق المعادلة الاتي [3]:

شدة الاصابة % = [(عدد الاجسام الحجرية المصابه)x (درجة اصابتها)] مجموع ---------- 100x
عدد الاجسام الحجرية الكلي المفحوص x اعلى درجة اصابه

أما اختبار التضاد لعزلات البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ضد عزلتي الفطرين الممرضين , فقد حضرت اطباق قطر 9 سم تحوي الوسط الزرعي PDA , لقحت بعزلات البكتريا بطريقه التخطيط وبالتخفيف 10^9 x 3 وحده تكوين مستعمره /مل وحضنت في ±28 مْ لمدة 48 ساعه ثم لقحت في اقراص 5 ملم من كل عزلة من الفطرين الممرضين مع ترك اطباق بدون تلقيح بالبكتريا للمقارنة.وضعت الاطباق في 27 مْ لمدة 5 ايام وعند امتلاء اطباق المقارنه بالنمو الفطري سجلت اقطار المستعمرات الناميه وحسبت نسبة التثبيط حسب المعادلة الاتيه [26]:

التثبيط % = معدل النمو القطري في معاملة الشاهد – معدل النمو القطري في معاملة البكتريا ---------- 100 x
معدل النمو القطري في معاملة الشاهد

6-القدرة التضادية لعزلتي عاملي المكافحة الاحيائية ضد الفطرين الممرضين وخليطهما تحت ظروف البيت الزجاجي

نفذت هذه التجربة في اصص بلاستيكية سعة 3 كغم تربة تحوي تربة مزيجية مع بتموس (1:2) معقمة واستخدم التصميم العشوائي الكامل بثلاث مكررات لكل معاملة وشملت المعاملات الاتية :

1- بذور غير معاملة في تربة غير ملوثه
2- بذور غير معاملة في تربه ملوثة بالفطر *R.solani*
3- بذور معاملة باللقاح البكتيري *P.fluorescens* في تربة ملوثه بالفطر *R.solani*
4- بذور معاملة بلقاح *T.viridi* في تربة ملوثه بالفطر *R.solani*
5- بذور معاملة بالمبيد بنليت في تربة ملوثه بالفطر *R.solani*
6- بذور غير معاملة في تربة ملوثه بالفطر *M.phaseolina*
7- بذور معاملة باللقاح البكتيري *P.fluorescens* في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina*
8- بذور معاملة بلقاح*T.viridi* في تربة ملوثه بالفطر *M.phaseolina*
9- بذور معاملة بالمبيد بنليت في تربة ملوثه بالفطر *M.phaseolina*
10-بذور زرعت في تربة ملوثه بالفطرين *M.phaseolina*.+ *R.solani* بنسبة 1:1)
11- بذور معاملة باللقاح البكتيري *P.fluorescens* في تربة ملوثه بخليط *M.phaseolina*+ *R.solani*
12- بذور معاملة ب *T.viridi*في تربة ملوثه بخليط *M.phaseolina*+ *R.solani*
13- بذور معاملة بالمبيد بنليت في تربة ملوثة بخليط *M.phaseolina*+ *R.solani*

لوثت التربة بشكل مسبق بالفطرين الممرضين بشكل منفرد بمقدار 1غم/ اصيص اما معاملات الخليط للفطرين فقد استخدمت بمقدار 0.5 غم من كل فطر/اصيص وتم الخلط مع التربه بشكل جيد ورطبت التربه وغطيت بقطعه نايلون وبعد 3 أيام زرعت ببذور السمسم المحلي (10 بذره / اصيص) مع ترك اصص غير ملوثة للمقارنة . استخدم المبيد بنليت 50% من شركه بروبيلتي الاسبانيه بمقدار 100 جزء بالمليون مادة فعالة من المبيد أو بمقدار 1 سم ^{3} / لتر ماء (25 مل / اصيص) [28] رطبت بذور السمسم بكميه قليله من الماء ثم اضيف اليها كميه مناسبه من اللقاح البكتيري المحضر سابقا على ماده النشا ووضع في دورق ورج جيدا .كثافه البكتريا على البذور 10^9 x 3 وحده تكوين مستعمره/مل اما المعامله بلقاح الفطر *T.viridi* فقد اجريت بنفس طريقه معامله البكتريا واحتوت البذور على طاقه لقاحيه 10^9 x 3 بوغ/ مل . سجلت نسب الاصابه وشدتها بعد 7, 15, 40, 60 يوما من الزراعه كما سجلت بعض الصفات كطول النبات ,عدد الافرع , القرنات ووزن الحاصل للنبات بعد ثلاثة اشهر من الزراعه . كما قدرت الكثافة اللقاحية للفطرين الممرضين في نهاية التجربة باخذ عينات من التربة لكل معاملة وبطريقة التخافيف والزراعة في اطباق حاوية على الوسط الزرعي PDA وبخمسة مكررات لكل معاملة .

النتائــج والمناقشـــة

اولاً : اختبارات القابلية الامراضية لعزلات الفطرين الممرضين تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي

اظهرت نتائج تقييم القابلية الامراضية لستة عزلات لكل من الفطرين*R.solani* و *M.phaseolina* وجود تفاوت في القابلية الامراضية على بادرات السمسم في الاطباق الزجاجية وبفروق معنوية احصائيا فقد تراوحت النسب المئوية للاصابة لعزلات الفطر*R.solani* من 46-100% وشدة الاصابة من 3-4 . في حين تراوحت نسب الاصابة بعزلات الفطر*M.phaseolina* من 54-100% وشدة الاصابة من 2-4 . وبالاعتماد على نسب الاصابة وشدتها مختبريا فقد تم اختيار العزلات 1, 9 و10 للفطر*R.solani* والعزلات 2 , 3, 8 و11 للفطر.*M.phaseolina* كاقوى عزلات وادخلت هذه العزلات في تجربة تحت ظروف البيت الزجاجي جدول (1)

جدول (1) : القابلية الامراضية لعزلات الفطرين الممرضين *Rhizochtonia solani* و *Macrophomina phaseolina* على بادرات السمسم في الاطباق الزجاجية

الفطر الممرض	المنطقه	رقم العزلة	الاصابة %	شدة الاصابة
	التاجي	1	* 100	4
	التاجي	4	80	4
R.solani	المدائن	6	48	3
	الراشديه	7	46	3
	اللطيفيه	9	100	4
	اللطيفيه	10	94	4
	المدائن	2	100	4
	الراشديه	3	90	4
	التاجي	5	60	4
M.phaseolina	اللطيفيه	8	100	4
	المدائن	11	92	4
	الراشديه	12	54	2
الشاهد(بدون فطر)		_	0,0	0,0
اقل فرق معنوي على مستوى 5%		_	11	0,9

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات (كل مكرر يحوي 10 بادرات)

أظهرت النتائج المعروضه في جدول (2) ان هنالك تباين واضح بين عزلات كل فطر من حيث نسب الاصابة قبل البزوغ وبعد البزوغ وبفروق معنويه احصائيا إذ بلغت نسب الاصابة قبل البزوغ لعزلات الفطر*R.solani* من 20-30% وبعد البزوغ من 40-50%, اما للفطر *M.phaseolina* فقد بلغت نسبة الاصابة قبل البزوغ من 14-30 % وبعد البزوغ من 50-66% كما اظهرت النتائج وجود زيادة في نسب النباتات المصابه بعد الانبات مقارنة بالنباتات المصابة قبل الانبات ولجميع العزلات.

إن نتائج هذه الدراسة تتوافق مع نتائج دراسات اخرى اشارت الى فشل الانبات لبذور السمسم والناتج عن اصابتها بالفطرين*R.solani* و *M.phaseolina* [3, 5 ,8 ,19] كما يلاحظ من جدول 2 ان الفطر*M.phaseolina* كان اقل خطورة في مرحلة ما قبل الانبات لكنه اصبح اكثر خطورة بعد الانبات والمراحل المتأخرة من النمو وهذا قد يرجع الى هذا الفطر من الفطريات التي تعمل تحت ضروف الجفاف وهذا ما يتفق مع ما وجده اخرين[2 , 3 , 4 ,8]. كما ان الاختلاف بين العزلات للفطرين الممرضين قد يعود الى اختلافها في انتاج السموم الفطرية او قدرتها على انتاج الانزيمات المحللة [2,24]واعتمادا على النتائج المدونه في جدول (2) فقد اعتمدت العزلة رقم (1) للفطر*R.solani* كأقوى عزلة واعطيت الرمز Rs-1 واعتماد العزلة رقم (8) للفطر*M.phaseolina*.كاقوى عزلة واعطيت Mp-8 واستخدمت هاتين العزلتين في الدراسات اللاحقة.

جدول (2): القابلية الامراضيةلعزلات الفطرين*Rhizochtonia solani* و *Macrophomina phaseolina* على نباتات السمسم تحت ظروف البيت الزجاجي .

الفطر الممرض	رقم العزلة	نسبه الاصابة %		
		قبل البزوغ	بعد البزوغ	قبل+بعد البزوغ
R.solani	1	*30	50	80
	9	30	40	70
	10	20	45	65
M.phaseolina	2	14	66	80
	3	28	50	78
	8	30	60	90
	11	14	60	74
الشاهد (بدون فطر)	-	0	0	0
اقل فرق معنوي عند مستوى 5%	-	9	4	8

*كل رقم في الجدول معدل 3 مكررات .

ثانيا : أختبارات القدرة التضادية لعزلات عاملي المكافحة الاحيائية ضد عزلتي الفطرين الممرضين تحت ظروف المختبر.

اظهرت نتائج اختبار القدرة التضادية لستة عزلات لكل من الفطر*Trichoderma* والبكتريا *Pseudomonas*وجود تباين بين العزلات في نشاطها التضادي فقد اظهرت عزلات الفطر*Trichoderma* تضادا مختلفا ضد عزلتي الفطرين الممرضين (*R.solani*-1,*M.phaseolina*-8) واظهرت العزلات (3 - 5) قدرة تضادية فعالة اذ بلغت درجة التضاد (1,8 , 1,2 , 1,6) على التوالي ضد عزلة الفطر الممرض *R.solani*-1 في حين اظهرت العزلتين 3 ,4 فعالية ضد عزلة الفطر الممرض *M.phaseolina* -8 اذ بلغت درجة التضاد (1,7 , 1,3) على التوالي . كما اظهرت العزلات السابقة ايضا قدرة متباينة في اصابة الاجسام الحجرية وكانت اكثر العزلات قدرة على الاصابة بعد 2سم من منطقة التماس هي(3 ,4 ,5) التي حققت شدة اصابة مقدارها (0,80 , 1, 0,88) على التوالي جدول (3) كما اوضحت دراسات الفحص المجهري تطفل هذه العزلات على الغزل الفطري والاجسام الحجرية. هذه النتائج تتوافق مع ما وجده [29] من قدرة الفطر*Trichoderma* على افراز مركبات متطايرة لها القدرة

على تثبيط نمو الفطريات وبالتالي فان العزلات التي اظهرت درجة تضاد 2 او اقل تكون مرشحة للاستخدام كعوالم مكافحة احيائية ناجحة اذ ان زيادة لقاحها في التربة لا يؤدي الى احداث اضرار سمية للنبات العائل [18 , 27]. اظهرت عزلات العامل الحيوي البكتيري تفوقا عاليا في نسب التثبيط ولجميع العزلات تراوحت من 60 – 100 % ضد عزلتي الفطرين الممرضين . كما اظهرت البكتريا قدرة على اصابة الاجسام الحجرية لعزلة الفطر *M.phaseolina*-8 اذ تراوحت النسبة من 80-100% والتي تعتمد على انبات او عدم انبات الاجسام الحجرية , اظهر الفحص المجهري انه حتى الاجسام الحجرية النابتة لم تستمر بالنموعند ترك الاطباق لمدة عشرة ايام وكان الانبات فقط من الجهة العلوية غير الملامسة لسطح الوسط الزرعي الحاوي على البكتريا ولم يستطيع الاستمرار بالنمو . هذه النتائج تتوافق مع ما ذكر عن نشاط هذه البكتريا في افراز العديد من المركبات التي تعمل بشكل مباشر على تثبيط نمو الفطريات في الاوساط الزرعية [16, 22] واعتمادا على نتائج جدول (3) فقد اعتمدت العزلة 4 للفطر *Trichoderma* وشخصت اعتمادا على المفتاح التصنيفي [25]على انها *T.virdi* وأعطيت .Tv كما تم اعتماد عزلة البكتريا رقم 6 وشخصت اعتمادا على [26] على انها *P.fluorescens* وأعطيت الرمز Pf لاستخدامهما في الدراسات اللاحقة.

جدول (3): القدرة التضادية لعزلات الفطر *Trichoderma spp.* والبكتريا *Pseodomonas spp.* ضد عزلتي الفطرين الممرضين *R.solani-1* و *M.phaseolina*-8 مختبريا .

العامل الحيوي	رقم العزلة	درجة التضاد بعد 5 يوم		شدة اصابة الاجسام الحجرية بعد 6 يوم وعلى بعد 2 سم من منطقة التماس للفطر Mp-8
		Rs-1	Mp-8	
Trichoderma spp.	1	*2.5	2.6	0.70
	2	2	2.3	0.60
	3	1.8	1.7	0.80
	4	1.2	1.3	1
	5	1.6	2	0.88
	6	2	1.9	0.80
		التثبيط %		
Pseodomonas spp.	1	90	80	100
	2	95	93	100
	3	60	95	100
	4	80	80	95
	5	70	60	80
	6	100	100	100

*كل رقم في الجدول يمثل معدل 5 مكررات

ثالثا : دراسة القدرة التضادية لعاملي المكافحة الاحيائية ضد الفطرين الممرضين أو خليطهما تحت ظروف البيت الزجاجي

أظهرت النتائج في جدول (4) تفوق عاملي المكافحة الاحيائية في خفض نسب الاصابة وشدتها مقارنه مع معاملتي الشاهد للفطرين الممرضين وبفروق معنوية احصائيا ولم تكن الفروق معنويه احصائيا عند مقارنتهما مع معاملة المبيد بعد 7 ايام من الزراعة, بلغت نسب الاصابة (18,19, 16) % لمعاملات البكتريا و*Trichoderma* والمبيد وعلى التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض *R.solani-1* إذ بلغت 60% . وكانت نسب الاصابة لنفس المعاملات هي(8 ,10 , 12%) وعلى التوالي مقارنه مع معاملة الفطر الممرض *M.Phaseolina-8* اذ بلغت 40 % في حين بلغت نسب الاصابة ايضا بعد 7 ايام من الاصابه لمعاملات خليط الفطرين الممرضين اذ بلغت (18, 25, 20) % وعلى التوالي مقارنة مع معاملة خليط الفطرين معا (*M.phaseolina*-8 +*R.solani-1*) . وقد زادت نسب الاصابة بالفطر *M.phaseolina-8* بعد 15 يوم من الزراعة مقارنة في مرحلة 7 ايام من الزراعة وصولا الى مرحلة ال60 يوما, كما لوحظ بعد 40 يوما من الزراعة وجود فروق معنوية احصائيا من حيث شدة الاصابة ما بين معاملات عاملي المكافحة الاحيائية مقارنة بمعاملة المبيد فمثلا كانت نسبة الاصابة في معاملة البكتريا 23% في حين كانت في معاملة المبيد 30% عند مكافحة الفطر الممرض *R.solani*-1 بينما بلغت النسبة 23% و31% لنفس المعاملتين وعلى التوالي عند مكافحة الفطر الممرض *M.Phaseolina*-8 ونفس الكلام ينطبق على معاملات خليط الفطرين الممرضين وبفروق معنوية احصائيا , كذلك لوحظ ان شدة الاصابة لمعاملات المبيد كانت اعلى مما هو علية في معاملات عاملي المكافحة الاحيائية مما يشير الى ان المبيد قد وفر حماية في المراحل الاولية لبزوغ البادرات ثم تلاشى مفعوله ربما بسبب تاثير العوامل الاحيائية واللا حيائية التي تعمل على تحلل المبيد [4 ,14, 23] كما لوحظ ان نسب الاصابة وشدتها كانت اعلى بالنسبة لوجود الفطرين الممرضين معا مقارنه مع استخدام عاملي المكافحة الاحيائية لمكافحة كل فطر ممرض لوحده مما يدل على ان وجود الفطرين الشرسين معا قد ادى الى زيادة مهاجمة البذور والبادرات وتضاعف ضررهما . ان هذه النتائج تتوافق مع نتائج باحثين والتي اشارت الى ان استخدام عوامل المكافحة الاحيائية والبكتيرية قد اعطى نتائج ايجابيه في مكافحة الفطرين الممرضين بشكل منفرد او مع خليطهما وهي الحالة الاقرب الى الطبيعة [15,13,12,11,3].

جدول (4): تأثير معاملات المكافحة المختلفة على مرض ذبول وتعفن جذور نباتات السمسم في تربه ملوثه بالفطرين *Rhizochtonia solani* و *Macrophomina phaseolina* أو خليطيهما تحت ظروف البيت الزجاجي .

يوم بعد الزراعه / المعاملات	7	15		40		60	
	% للإصابة قبل البزوغ	% للإصابة	شدة الاصابة	% للإصابة	شدة الاصابة	% للإصابة	شدة الاصابة
الشاهد بدون اي معاملة	0	0	0	0	0	0	0
Rs	60	65	22	60	3.3	66	3.6
Rs+Pf	18	20	0.3	23	0.4	25	0.5
Rs+Tv	19	20	0.6	24	0.8	28	0.9
Rs+Ben.	16	20	1.3	30	1.8	40	2
Mac.	40	50	2.1	60	3.2	70	3.4
Mac.+Pf	8	16	0.4	23	0.5	26	0.6
Mac.+Tv	10	21	0.7	24	0.9	28	0,9
Mac.+Ben.	12	20	1.4	31	1.9	35	1.8
Mac.+Rs	50	60	2.8	70	2.9	80	2.9
Mac.+Rs+Pf	20	30	0.5	35	0.6	40	0.7
Mac.+Rs+Tv	25	35	0.6	40	0.7	45	0.6
Mac.+Rs+Ben.	18	30	1.8	48	1.9	58	2
L.S.D 5%	8	7	0.5	5	0.7	6	0.7

Rs=R.solani , Pf=P.fluorescens , Tv= T.viride , Mc=M.phaseolina , Ben= benlate

انعكست نتائج جدول (4) على الصفات المظهرية و الحاصل من حيث طول النبات وطول الجذر ومعدل الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري وعدد القرون وعدد التفرعات جدول (5) فقد ادت معاملة البكتريا الى زيادة معنوية احصائيا في معدل طول النبات اذ بلغ 73 و 72 سم مقارنة مع طول النبات لمعاملتي الفطرين *R.solani-1* و *M.phaseolina-8* لوحدهما اذ بلغت 50 و 52 سم وعلى التوالي ونفس الكلام ينطبق على العامل الحيوي الفطري ومن جهة اخرى وجدت زيادة غير معنوية في طول النبات لمعاملتي العامل الحيوي مقارنة مع معاملة الشاهد غير المعامل وهذ ا يشير الى قدرة عاملي المكافحة الاحيائية على افراز منظمات النمو التي تزيد من استطالة النبات [8 ,21]. كما ادى استخدام عاملي المكافحة الاحيائية الى تحسين معدل الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري وبفروق معنويه احصائيا وانعكست هذه الزيادة على تفرع النبات وعلى الحاصل من خلال عدد القرنات لكل نبات والتي تراوحت في معاملات البكتريا من 4.3-4.5 وفي معاملات *Trichoderma*ن 4.3-4.6 قرنة لكل نبات عند استخدامها بشكل منفرد , أما في معاملات خليط الفطرين الممرضين فكانت بحدود 3.5 قرنه لكل نبات وبفروق معنويه احصائيا عند مقارنتها مع معاملات الشاهد السليم والملوث اذ بلغت 3.3 و 2.2و2.1 قرنه لكل نبات وكان هنالك انخفاض واضح في اعداد القرنات لمعاملة خليط الفطرين مقارنة مع مكافحة الفطر الممرض لوحده . هذه النتائج تتوافق مع ما ذكر عن ان هذه العوامل الاحيائية لها دور مهم في تحسين نمو النبات وزيادة الحاصل في العديد من المحاصيل الزراعية ومن خلال اليات مختلفة منها التضاد , تحفيز النمو , زيادة استهلاك العناصر الغذائية , تحفيز المقاومة الجهازية للنبات وافراز منظمات النمو [8 ,11,14, 17, 21] .

جدول (5): تأثير معاملات المكافحة المختلفة على الصفات المظهرية ومكونات الحاصل لنباتات السمسم (عمر 3 اشهر) في تربة ملوثة بالفطرين الممرضين وخلطهما تحت ظروف البيت الزجاجي .

المعاملات	معدل الطول (سم)/ نبات		معدل الوزن(غم)/ نبات		فرع / نبات	قرنة / نبات
	الساق	الجذر	الساق	الجذر		
الشاهد	66	20	8.6	2.5	1.6	3.3
Rs	50	14.5	7.3	1.5	1.2	2.1
Rs+Pf	73	21.5	9.6	2.8	2.3	4.3
Rs+Tv	70	21	9.5	2.6	2.3	4.3
Rs+Ben.	60	19	7.8	1.9	1.8	3.3
Mac.	52	15.3	7.2	1.5	1.2	2.2
Mac.+Pf	72	20.8	9.4	2.9	2.4	4.5
Mac.+Tv	68	20.6	9.4	2.8	2.5	4.6
Mac.+Ben.	61	19.5	7.8	1.8	1.8	3.2
Mac.+Rs	48	13.8	6.2	1.2	0.9	1.8
Mac.+Rs+Pf	60	19.5	8.3	2.1	2	3.5
Mac.+Rs+Tv	59	19.6	8.4	2.1	2	3.5
Mac.+Rs+Ben.	45	18.3	6.4	1.3	1.2	2
L.S.D 5%	11	4.5	0.9	0.8	0.3	0.9

Rs=R.solani , Pf=P.fluorescens , Tv= T.viride , Mc=M.phaseolina , Ben= benlate

أنعكس وجود هذه العوامل الاحيائية في التربة وتكاثرها ومنافستها للفطرين الممرضين على الكثافة السكانية للفطرين الممرضين اذ ادت الى خفض في سكان الفطرين بشكل منفرد او خليطهما كما موضح في جدول (6) فقد بلغ عدد المستعمرات لمعاملتي البكتريا و*Trichoderma* 30 و45 مستعمره / غم تربه وعلى التوالي مقارنة مع معاملة الفطر *R.solani-1* لوحده اذ بلغت 140 مستعمرة لكل غم تربه وبلغت 15 و 20 لمعاملتي

البكتريا و*Trichoderma* وعلى التوالي مقارنه مع معاملة الفطر *M.phaseolina-8* اذ بلغت 100 مستعمرة لكل غم تربه .ويلاحظ ان الكثافة السكانية لكلا الفطرين بشكل منفرد او خليط كانت عاليه في معاملة المبيد ما يدل على ان المبيد كان محدود التأثير في المراحل الاولى فقط وخلال فتره 15 يوم بعد الدراسة في حين استمر تكاثر عاملي المكافحة الاحيائية واستمرارها في افراز المواد التي تؤثر في حيوية الفطرين الممرضين [23 ,14].

جدول (6): الكثافة السكانية في المنطقة المتأثرة بجذور نباتات السمسم للفطرين الممرضين *Rhizochtonia solani* و *Macrophomina phaseolina* في التربه الملوثه في الفطرين وخليطهما .

المعاملات	Rs x 10^3 / غم تربة	Mac. X 10^3 / غم تربه
الشاهد	0	0
Rs	140	-
Rs+Pf	30	-
Rs+Tv	45	-
Rs+Ben.	80	-
Mac.	-	100
Mac.+Pf	-	15
Mac.+Tv	-	20
Mac.+Ben.	-	50
Mac.+Rs	65	70
Mac.+Rs+Pf	30	35
Mac.+Rs+Tv	40	42
Mac+Rs+Ben.	50	55

ومن خلال هذا البحث يمكن أجراء دراسة تكميلية حقليه وايجاد خلطات يدخل فيها الفطر*Trichoderma* والبكتريا ***Pseodomonas*** وبشكل مساحيق جافة يسهل تداولها واستخدامها بشكل ميكانيكي من خلال المكننة الزراعية وايجاد افضل طريقة تطبيقية حقلية من خلال معاملة التربة قبل الزراعة بالفطر *Trichoderma* ثم زراعة بذور معفرة باللقاح البكتيري تجنبا لاحتمال حدوث تضاد بينهما وخاصة مع المحاصيل الحقلية التي تزرع عادة بمساحات واسعه .

المصـادر

1. صفر, ناصر حسين. (1990). المحاصيل الزيتية في العراق جامعة بغداد – العراق.
2. العاني, ناهده مهدي صالح. (1988). دراسات مورفولوجية وفسيولوجية عن الفطر *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التفحم الفحمي. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد – العراق : ص 1-79.
3. حافظ, حمدية زاير علي. (2001). المكافحة المتكاملة لمرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب على الفطر *Macrophomina phaseolina*. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد – العراق ص 1-116.
4. Zahra, A. M. K. (2006) . Studies on wilt disease of sesame (*sesamum indicum L.*)in upper Egypt . PH. D. theses. Fac. Agric. Assutuniv. PP.118.
5. Ziedan, E. H. E. (2007). Integrated control of wilt and root rot disease of sesame in Arabic Republic of Egypt . Ph. D. theses. Fact of Agric. Ain-shams univ.
6. عبود, هادي مهدي, خضير محمد وهيب, حمود مهيدي صالح, فالح حسن سعيد واحمد موسى حيدر. (2001). تقييم مقاومة متغيرات وراثية من السمسم للاصابه بمرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. مجلة البحوث الزراعية العراقية 5 (12) : 222- 233.
7. فياض, محمد عامر. (1997). استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annus l.* للاصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* ودور بعض الطرق الاحيائية بالمقاومة. اطروحة دكتوراه كلية الزراعة – جامعة بغداد- العراق : 1-91.
8. Dina Karan, D., Rama Krishnan, G., Sridhan, R. and Jeyrajan, R. (2008). Management of sesamum root rot with bio control agents . J. of oil seeds Research . 12 (2): 262-263.
9. الدليمي, إسماعيل عباس, شيماء عبد اللطيف موسى وسمير محمد أحمد. (2003). تطوير وتقويم مستحضر جاف من البكتريا *Pseodomonas fluorescens* . مجلة الزراعة العراقية 8 (3) : 104-110.
10. حسون, ابراهيم خليل. (2005). المكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia.solani*اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة/ جامعة بغداد – العراق.
11. Koch, E. (2005). Evaluation of commercial products for microbial control of soil born plant disease . Crop Protection. 18 : 119-125.
12. العاني, ناهده مهدي صالح. (1997). فعالية البكتريا *Pseodomonas fluorescens* ضد الاصابة بالفطرين *Macrophomina phaseolina*و *Rhizoctonia solani* في ظروف البيت الزجاجي. مجلة العلوم الزراعية العراقية 28 : 69- 73 .
13. جديع, اسماعيل عباس, عفراء عبد الوهاب علي, شيماء عبد اللطيف موسى وبلاسم احمد عباس. (2009). المكافحة المتكاملة لمرض الذبول الفيوزارمي على الطماطة بالتوافق بين البكتريا *Pseodomonas fluorescens* و الفطر *Trichoderma harzianum*. تحت الظروف الحقلية. مجلة الزراعة العراقية , مجلد 14(3) : 1-10.
14. جديع, اسماعيل عباس, حيدر رشيد حسن وبلاسم احمد عباس .(2011). مكافحة المسبب المرضي *Rhizoctonia solani* على الطماطة باستخدام البكتريا *Pseodomonas fluorescens* وبعض المبيدات تحت ظروف البيت الزجاجي والحقل. مجلة الزراعة العراقيه, مجلد 16 (6): 95-105.

15. جديع, اسماعيل عباس. (2012). المكافحة الاحيائية للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض سقوط البادرات وتعفن جذور الخيار باستخدام البكتريا *Pseodomonas putida* تحت ظروف البيت الزجاجي والحقل. المؤتمر الدولي السادس للتنمية والبيئه في الوطن العربي 24-26 اذار – جامعة اسيوط مصر ص 3-13.

16. Fatima, Z., Saleemi, M. and Aslam, M. (2009). Anti-fungal activity of plant growth promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. Afri. J. Bio techno. 8 (2): 219-225.

17. الناصري, سارا قحطان سليمان. (2001). المقاومة الاحيائية لبعض فطريات تعفن جذور القرنفل وموتها بواسطة انواع الفطر *Ttichoderma spp.* رسالة ماجستير – كلية التربية للبنات – جامعة بغداد – العراق . ص 1-91.

18. اسطيفان, زهير عزيز, كامل سلمان جبر وهديل بدري داوود. (2005). عزل الفطور من بذور فول الصويا ونباتاتها واثرها في انبات البذور وبادراتها ومكافحتها احيائيا. مجلة وقاية النبات العربية. مجلد 23 (1): 51-56.

19. حافظ, حمدية زاير علي, هادي مهدي عبود, فرقد عبد الرحيم عبد الفتاح الراوي وسميرة عوده خليوي. (2005). تقييم القدرة التضادية لاربعة وثلاثين عزلة من الفطر *Ttichoderma spp.* ضد الفطر *Macrophomina phaseolina* تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي. مجلة وقاية النبات العربية 23 (1) :44-50.

20. AL-chabi, S. and Matroad, L. (2009). laboratory study to evaluate efficacy of different *Trichoderma spp.* Isolates on some soil born pathogenic fungi. Arab J. of plant protection .20 (2): 77-83.

21. Altomare, C., Norvell, W. A., Bjorkamn, T. and Harman, G. E. (2006). Solubilization of phosphates & micronutrients by the plant growth promoting and bio control fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied and Environ. Microb. 65: 2926 – 2933.

22. Combant, S., Duffy, B. and Barca, E. (2005). Use of plant growth promoting bacteria for bio control of plant diseases : principles, mechanisms of action and future prospects. Minirevew, appl. And Environ. Microbl. 71(9): 4951-4959.

23. Montealegre, J.R., Reyes, R. and Perez, L. M. (2010). Selection bio antagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Electron J. bio technol. 6 (2): 115-127.

24. Mazzola, M. (1997). Identification and Pathogenicity of *Rhizoctonia spp.* Isolated from apple roots and orchard soils. Phytopathology 87 (11): 582-587.

25. Domsich, K. H. Gams, W. and Anderson, T. (1980). Compendium of soil fungi. Academic press.

26. Holt, J. G., Criege, N. R., Staley, T. T. and Williams, S. T. (1994). Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 4th , ed. Williams and Wilkins , Platimor , Maryland , U.S.A.

27. Bill, D. K., Wells, H.D. and Markham, C.R. (2006). *In vitro* antagonism of *Ttichoderma spp.* against six fungul plant pathogens. phytopath. 96: 379-382.

28. Meister, R.T. (2010). Farm chemical handbook. listing for Willough by Oh. Vol. 86, P45.

29. Herman, G. E. (2010). My thus & dogmas of bio control. Plant Dis. 84: 377-393.