Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

اختبار تاثير بعض العوامل الحيوية والمبيد Topsen-M في السيطرة على مرض تعفن جذور نبات البيتونيا المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*

د. فضل عبد الحسين الفضل منتظر محسن الجنابي
قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة الكوفة – جمهورية العراق

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لتقييم كفاءة اثنان من عوامل المكافحة الاحيائية البكتيرية *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus subtilis* وعامل المكافحة الفطري *Trichoderma harzianum* والمبيد Topsen-M في السيطرة على مرض تعفن جذور نبات البيتونيا المتسبب عن الفطر *Rhizoctoniasolani* في ترب الاصص البلاستكية . أظهرت نتائج تجربة الأصص داخل البيت الزجاجي أن استخدام عاملي المكافحة الإحيائية والمبيد Topsin – M أعطت أفضل النتائج في رفع النسبة المئوية لإنبات البذور اذ بلغت 100% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض البالغة 0.0%و ان استخدام العوامل الحيوية والمبيد الكيميائي ادت الى تقليل النسبة المئوية لتواجد الفطر الممرض في الجذور وزيادة في الطول و الوزن الطري والجاف للنبات وزيادة مساحة الورقة وزيادة محتوى النبات من الكلوروفيل اذ كان اعلى معدل لأطوال النباتات في معاملة الفطر *T. harzianum* ومعاملة Topsen-M + *B. subtillis* اذ بلغت 17.9 و14.6 سم/نبات على التتاليمقارنة بمعاملة السيطرة البالغة 14.3% .وبينت النتائج ان افضل زيادة في الوزن الطري للنبات كان في معاملة *Trichoderma harzianum* ومعاملة *P. fluorescens* اذ بلغت 8.164 و7.863% على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة البالغة 5.213 %.وتبين من النتائج ان اكبر مساحة ورقية في معاملة *T.harzianum* و *T. harzianum+ P. fluorescens* اذ بلغت 80.3و57.3 على التتالي مقارنة بمعاملة السيطرة البالغة 47.0 %. في حين ان محتوى الاوراق من الكلوروفيل ظهر بنسبة كبيرة في معاملة *Trichoderma harzianum* و *T. harzianum + P. fluorescens* + *R. solani* اذ بلغت 7.381 و7.003 % على التتالي مقارنة بمعاملة السيطرة التي البالغة2.610 %.

الكلمات المفتاحية : الفطر *Rhizoctoniasolani*، نبات البيتونيا ، *T. harzianum*

المقدمة

تؤدي نباتات الزينة دورا مهما في حياة الشعوب والمجتمعات لما لها من دور مهم في النواحي الترفيهية والجمالية في الحدائق العامة والمتنزهات والشوارع الرئيسة اذ تضفي جمالا كبيرا على المدن ،وتقسم حسب احتوائها على الأزهار إلى أعشاب ورقية تزرع لجمال أوراقها وقابليتها للقص والتشكيل والزخرفة او أعشاب مزهرة تزرع لجمال أزهارها كنبات البيتونيا وغيرها من نباتات الزينة(32). تصلح البيتونيا للزراعة في الالواح الامامية وتتكاثر بالبذور في الربيع والخريف كما يمكن ان تتكاثر بالعقل الطرفية وتنجح زراعة البيتونيا في كلا الموسمين الصيفي والشتوي وجذورها صغيرة جدا لذلك تزرع في سنادين صغيرة بعد خلطها بالرمل اذ يمكن ان تنثر نثرا خفيفا تنبت البادرات وتشتل على بعد 20-25 سم بين نبتة واخرى (9) . نبات البيتونيا متفرع واصنافه اما متوسطة او قصيرة الارتفاع من 60 – 80 سم وهناك اصناف حديثة متدلية او متسلقة وتكون متعددة الالوان والاصناف البرية من نبات البيتونيا تكون ذات لون بنفسجي او ابيض يتكاثر البيتونيا بالبذور ،والازهار تكون غير قابلة للقطف و يتعرض نبات البيتونيا لأمراض عديدة منها تبقع الاوراق وتعفن الجذور والامراض الفايروسية (2) .

ومن بين أكثر الكائنات استعمالاً في السيطرة الحيوية هو الفطر *T. harzianum* بسبب سهولة عزله وسرعة تكاثره وعدم احتياجه إلى متطلبات غذائية خاصة وتأثيره الإيجابي في نمو الكثير من النباتات فضلاً عن تأثيره الإيجابي في ايقاف نمو الكثير من المسببات المرضية للنبات وباليات وطرق مختلفة ، وكذلك البكتريا *B.subtilis* التي اعطت كفاءة عالية للسيطرة على بعض الممرضات الفطرية في العراق (6و 3) ، وبالرغم من التوجه نحو المقاومة الأحيائية والسلبيات المختلفة للمكافحة الكيميائية لكن في النهاية لا يمكننا الاستغناء عن المكافحة الكيميائية ولا يمكن عدَ الطرق الأخرى بديلة عنها و لكن يجب استعمالها بطريقة علمية مدروسة للتقليل من التلوث البيئي وما ينجم عنها من سلبيات مختلفة .

يسبب الفطر *R.solani* امراض عديدة تصيب نباتات الزينة ومن اهمها موت بادرات وتعفن الجذور وعفن ساق تؤدي الى خفض في نوعية وكمية النبات المصاب (33).

وللسيطرة على الفطر الممرض *R. solani* او التقليل من الاضرار الناتجة التي يسببها الفطر، تستخدم نباتات او اصناف نباتية مقاومة وكذلك تستخدم مبيدات وقائية فطرية للسيطرة على الفطر الممرض (12).
ونظراً لقلة الدراسات على امراض نباتات الزينة في العراق بصورة عامة ومحافظة النجف الاشرف بصورة خاصة و لانتشار اعراض مرض تعفن الجذور وسقوط البادرات المتسبب عن الفطر *R.solani* على بعض نباتات الزينة ومنها البيتونيا فقد تم اختيار هذا الموضوع الذي تضمن النقاط الاتية :
1-عزل وتشخيص الفطر *R. solani* المسبب للتعفن جذور نباتات البيتونيا
2-دراسة تاثير بعض عوامل المقاومة الحيوية في حماية نبات البتونيا من الاصابة بالفطر *R. solani*
3- اختبار قدرة المبيد الكيميائي Topsen-M في التقليل من المرض .

المواد وطرائق العمل

البذور المستخدمة في الدراسة واختبار النسبة المئوية لإنباتها
استخدمت في الدراسة بذور نبات البيتونيا المحلي Cardin petunia والتي تم الحصول عليها من احد مكاتب تجهيز المستلزمات الزراعية في النجف الأشرف , وقد اختبرت حيوية البذور وذلك بأخذ 20 بذرة ووضعت هذه البذور في طبق بتري بعد ان وضعت في الطبق قطعة من القطن الطبي المشبعة بالماء لتوفير الرطوبة اللازمة لانبات البذور وحضنت بدرجة حرارة 25°م لمدة 72 ساعة , واجريت هذه التجربة لمعرفة كفاءة البذور المستعملة في الدراسة وتم حساب النسبة المئوية لإنبات البذور وفق المعادلة التالية :-

$$\%\ \text{للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلي}} \times 100\%$$

عزل وتشخيص الفطر جذور وقواعد سيقان نباتات البيتونيا المصابة بالمرض
نقلت العينات النباتية (نبات البيتونيا) إلى المختبر حيث تم غسلها بصورة جيدة , ومن ثم قطعت العينات إلى قطع صغيرة بطول 0.5-1سم وتم تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 10% من المحلول التجاري لمدة دقيقتين , ثم غسلت بالماء الجاري عدة مرات للتخلص من هايبوكلورات الصوديوم , ثم جففت العينات على ورق ترشيح معقم ثم زرعت في أطباق بتري تحوي على P.D.A. المحضر مسبقا بواقع 4 قطع و3 اطباق لكل عينة , حضنت الأطباق في درجة حرارة 2±25 م لمدة 3 ايام تم حساب اعداد المستعمرات ثم تنقيتها في اوساط زرعيه جديدة وشخصت الفطريات المستخدمة على مستوى الجنس اعتمادا على الصفات التصنيفية المعتمدة في مختبرات قسم وقاية النبات كلية الزراعة /جامعة الكوفة وبمساعدة د. مجيد متعب ديوان و د. صباح لطيف علوان وبأتباع المفاتيح التصنيفية في (36 و 30 و15).
فطر المقاومة الإحيائية *T. harzianum*
استعملت في هذه الدراسة العزلة الاسترالية للفطر *T.harzianum* كعامل مكافحة حيوية التي تم الحصول عليها من قسم وقاية النبات - كلية الزراعة /جامعة الكوفة من قبل الأستاذ الدكتور مجيد متعب ديوان , والتي أظهرت في دراسات سابقة كفاءة عالية كعامل مقاومة حيوية ضد العديد من مسببات أمراض النبات.
بكتريا المقاومة الاحيائيةبكتريا *B. subtillis* و *P.fluorescens*
تم الحصول على عزلتي البكتريا *B. subtillis* و *P. fluorescens* من قسم وقاية النبات - كلية الزراعة /جامعة الكوفة من قبل الاستاذ الدكتور صباح لطيف علوان , والتي اظهرت في دراسات سابقة كفاءة عالية كعامل مقاومة حيوية ضد العديد من مسببات امراض النبات .
حفظ عزلات الفطريات والبكتريا المستعملة في الدراسة
الحفظ على الوسط P.D.A.
حضر الوسط الغذائي P.D.A. كما ذكر سابقا بمقدار 250مل ووزع في انابيب اختبار زجاجية ثم عقم في جهاز المؤصدة تحت درجة حرارة 121°م وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 20 دقيقة، بعد انتهاء التعقيم وضعت الانابيب بشكل مائل وتركت حتى تتصلب ثم لقحت بالفطريات ، ثم تم تحضينها عند درجة حرارة 25°م لمدة اسبوع وحفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م . **(10)**.

تحضير لقاح الفطر الممرض *R. solani* المعزول من نبات البيتونيا المصابة وفطر المكافحة الحيوية *T. harzianum*

استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض اكثار اللقاحات الفطرية للممرض والحيوي حيث نقعت بذور الدخن بالماء لمدة 6 ساعات ومن ثم تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد عنها ووضع كل 100 غم منها في دورق زجاجي سعة 250 مل وعقمت البذور بجهاز الموصدة في درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند/انج² لمدة ساعة واحدة ثم أعيدت عملية التعقيم في اليوم التالي تحت درجة الحرارة والضغط والوقت نفسه. ثم لقحت الدوارق كل على حده وذلك بوضع 5 أقراص من حافة المستعمرة الفطرية قطر 0.5 سم لكل دورق من المستعمرات النقية النامية على الوسط الزرعي P.D.A. وبعمر 7 أيام ولكل من الفطر الممرض *R.solani*وفطر المكافحة الحيوية *T. harzianum* وحضنت الدوارق في درجة حرارة 25±2 مْ لمدة 14 يوم مع مراعاة رج الدوارق كل 2-3 أيام لضمان توزيع الفطريات على جميع البذور وتجنب تكتل البذور مع الغزل الفطري , بعد 10 أيام استعملت بذور الدخن الحاملة للفطريات كل على انفراد بحسب التجربة المراد تنفيذها (14) .

تحضير القاح البكتيري لكل من بكتريا *B. subtillis* و *P.fluorescens*

تم اكثار عزلات البكتريا اعلاه كلا على انفراد على وسط P.D.B حيث وزع الوسط على دوارق سعة 250 مل ولقح كل دورق بالعزلات البكتيرية على انفراد وحضنت الدوارق في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وتم حساب عدد الوحدات الحية Colony Forming Unit -(CFU) لكل بكتريا باستخدام طريقة التخافيف العشرية حيث حضرت 9 انابيب اختبار كل انبوبة تحوي 9 مل ماء مقطر معقم ثم اضيف الى الانبوبة الاولى 1 مل من مزارع كل بكتريا (كلا على انفراد)اذ يكون التركيز الاول 10^{-1}ونقل واحد مل من الانبوبة الاولى الى الانبوبة الثانية ليصبح الحجم 10^{-2} ثم نقل واحد مل من الثانية الى الثالثة ليصبح الحجم 10^{-3} وتستمر سلسلة التخافيف وصولا الى التخفيف 10^{-9} ثم اضيف واحد مل من كل تخفيف الى طبق بتري معقم وصب علية الوسط الزرعي N.A وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24ساعة وحسبت عدد المستعمرات النامية من كل تخفيف وقدر العدد بضرب عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف ،وبناءا على ذلك تكون الكثافة العددية المستعملة 7×10^{10}خلية/مل لبكتريا*P. fluorescens* و4×10^{9} خلية /مل لبكتريا*B. Subtillis* (6)

تجارب الاصص

موقع تجربة الاصص :

نفذت التجربة الحقلية في يوم 1\4\2016 في ناحية الحيرة بمحافظة النجف الاشرف. حيث تم الحصول على التربة من قضاء المشخاب (تربة رملية) عقمت التربة المستخدمة للزراعة بالكحول الاثيلي بنسبة2 مل/كيلو. تم تقليب التربة مع الكحول ثم غطيت التربة بالبولي اثلين لمدة يومين و بعدها عرضت التربة للشمس لمدة يومين ايضا بعد ذلك وزعت التربة في سنادين حجم 2 كيلوغرام واضيف لها البتموس بنسبة 1:2على اساس الحجم ولكل معاملة 5مكررات (---). ونفذت التجربة طبقاً للاضافات التالية :

1- تربة رملية معقمة بدون اضافة (Control)
2- الفطر الممرض (*R.solani*)
3- الفطر الحيوي(*T.harzianum*)
4- بكتريا (*B. subtillis*)
5- بكتريا (*P. fluorescens*)
6- المبيد الكيميائي Topsin-M
7- الفطر الممرض (*R.s*)+الفطر الحيوي(*T.harzianum*)
8- الفطر الممرض(*R.s*) + بكتريا (*B.s*)
9- الفطر الممرض (*R.s*) + بكتريا (*P.f*)
10- الفطر الممرض (*R.s*) +المبيد الكيميائي Topsin-M
11- الفطر الحيوي (*T.h*) + بكتريا (*B.s*)
12- الفطر الحيوي (*T.h*) + بكتريا (*P.f*)
13-الفطر الحيوي (*T.h*) + المبيد الكيميائي Topsin-M
14- بكتريا (*B.s*). + بكتريا (*P.f*)
15- بكتريا (*B.s*). + المبيد الكيميائي Topsin-M
16- بكتريا (*P.f*). + المبيد الكيميائي Topsin-M
17- الفطر الحيوي(*T.h*) + بكتريا (*B.s*) +الفطر الممرض(*R.s*)
18- الفطر الحيوي(*T.h*) + بكتريا (*P.f*) +الفطر الممرض(*R.s*)
19- الفطر الحيوي(*T.h*)+ المبيد الكيميائي Topsin-M+ الفطر الممرض(*R.s*)

20- بكتريا (*B.s*) + بكتريا (*P.f*) + الفطر الممرض(*R.s*)
21- بكتريا (*B.s*) + المبيد الكيميائي Topsin-M+ الفطر الممرض(*R.s*)
22- بكتريا (*P.f*) + المبيد الكيميائي Topsin-M+ الفطر الممرض(*R.s*).
ملاحظة : ان كل معاملة من المعاملات توجد تربة معقمة

دراسة تاثير عوامل المقاومة الحيوية والفطر الممرضعلى الطول والوزن الطري والجاف ومساحة الورقة والكلوروفيل الكلي لنبات البيتونيا

اخذت ثلاثة نباتات عشوائية من كل معاملة وتم قياس الطول للمجموع الخضري والجذري وتم اختيار ورقة عشوائية من كل نبات بيتونيا لقياس مساحتها ، وتم قياس طول المجموع الخضري والجذري بواسطة مسطرة مدرجة كما تم رسم الاوراق النباتية المأخوذة على اوراق بيانية وبعد ذلك تم حساب عدد المربعات الكاملة والمنقوصة التي تشغلها صورة الورقة في حساب مساحتها مستخدمين بذلك القانون التالي :-

$$\text{مساحة الورقة سم}^2 = \text{عدد المربعات الكاملة} + \frac{\text{عدد المربعات المنقوصة}}{2}$$

تم قياس الوزن الطري لنباتات البيتونيا المختارة عشوائيا من كل وحدة تجريبية بعد غسلها جيدا ووضعها على ورق ترشيح لازالة الماء الزائد منها ، وسجل معدل الوزن الطري لكل وحدة تجريبية بعد ان اخذ الوزن الطري للنباتات تم تعليم العينات المأخوذة من كل معاملةً ووضعت في اكياس ورقية بصورة جيدة وجُففت في الفرن الكهربائي على درجة 40مْ ولمدة يومين لحين ثبات الوزن وسُجلت النتائج لكل نبات , ثم قُدر الوزن الجاف لكل نبات وسجل المعدل لكل وحدة تجريبية.(10)

وتم تقدير كمية الكلوروفيل الكلية في أوراق نبات البيتونيا لكل معاملة وذلك بأخذ وزن 1غم من الاوراق الطرية ووضعت في هاون خزفي ثم اضيف لها مادة الأسيتون بمقدار 10 مل ثم طحت العينة بصورة جيدة ورشح النموذج , بعدها أخذ الراشح وترك الراسب ووضع في خلية زجاجية واخذت قراءة للكلوروفيل الكلي, حيث اخذت القراءة من الجهاز مباشرة بعد أن تم أخذ نماذج معلومة وعمل مخطط بياني لها .و تم قياس امتصاصية الكلوروفيل بجهاز الامتصاص الضوئي (UV Spectrophotometer ذو المنشأ الياباني , تاريخ الصنع 2006) , ويتم قياس الكلوروفيل الكلي على الطول ألموجي 663 و 645وفق المعادلة التالية:

$$\text{Total Chlorophyll} = [20.2\ D\ (645) + 8.02\ D\ (663)\ (V/W \times\ 1000) \times\ 100]$$

علماً إن: D = الإمتصاص الضوئي Optical Density
D (663) = قراءة الامتصاص الضوئي بطول موجي 663 نإنوميتر
D (645) = قراءة الامتصاص الضوئي بطول موجي 645 نإنوميتر
V = الحجم النهائي للمستخلص 10مل
W = وزن النسيج الورقي 1غم.

النتائج والمناقشة

تجارب الاصص

طول النبات والاوزان الطرية والجافة

تبين من النتائج الموضحة في جدول (1) تفوقت معاملة الفطر *T. harzianum* تفوقا معنويا بإعطائها أعلى معدل لطول للمجموع الخضري لنبات البيتونيا الذي بلغت 17.9 سم . اذ اتفقت هذه النتائج مع ما ذكر(1) قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت 14.3 سم ,في حين ان معاملة الفطر *R. solani* عملت على تقليل المجموع الخضري لنبات البيتونيا والذي بلغ 8.6 سم قياسا مع بقية المعاملات ا, بينما ان معاملة *T.harzianum* +Topsen-M الذي بلغت 14.8 سم لم تختلف معنويا عن معاملة-Topsen +*MB .subtilis* الذي بلغت 14.6 سم وتتفق هذه النتائج مع (10) .

اما بالنسبة لمعدل طول المجموع الجذري فقد تفوقت معاملة *R.solani* +*T. harzianum*+*Bsubtillis* . التي بلغت 11.7 سم وتتفق هذه النتائج مع(29) مقارنة مع معاملة السيطرة البالغة9.6 سم في حين اعطت معاملة الفطر الممرض *R. solani* اقل معدل لطول المجموع الجذري لنبات البيتونيا والذي بلغ 8.1 سم ,وان معاملة *T.harzianum* + Topsen-M التي بلغت 11.6 سم لم تختلف معنويا عن معاملة *T. harzianum* +*P. fluorescens* التي بلغت 11.5 سم وتتفق هذه النتائج مع ابراهيم وسمير (1) .

تفسير ذلك يعود الى امتلاك فطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* القابلية على افراز العديد من الانزيمات التي تعمل على تثبيط أنزيمات الفطر الممرض فضلا عن إفرازه لبعض المواد المشجعة لنمو النبات أو إلى قابلية الفطر الإحيائي على تحفيز نمو النباتات من خلال إفراز منظمات نمو نباتية تعمل بتوافق مع آليات أخرى منها زيادة جاهزية وامتصاص العناصر المغذية للنبات (18) ، و يمتلك القابلية على انتاج المضادات الحياتية (13) و وجد ايضا ان للفطر الحيوي قابلية على انتاج المضادات الحيوية مثل Trichodermol و Trichodermin وGliotoxine و pachybasi وEmodin وChrysophancol (25) وللفطر *T. harzianum* قدرة على كبح عمل الممرضات النباتية من خلال عدة آليات كالمنافسة على الموقع والغذاء والتضاد الحياتي لها وإفراز كثير من الإنزيمات المحللة لجدر خلايا العائل الممرض ، وتحفيز مقاومة العائل النباتي ضد المسبب المرضي (7) .

أشار (23) إلى إن تحفيز النمو بهذا العامل الأحيائي ربما يعود إلى كبح المسببات المرضية الأقل أهمية أو الثانوية . (18)إن بعض عزلات الفطر *T. harzianum* تحفز نمو الجذور والنبات بوساطة كبح المسببات المرضية الثانوية المؤذية للجذور فضلا عن تأثيراتها الأخرى ،إذ وجد أن لهذا الفطر مقدرة استيطان عالية في الجذور مما يؤدي إلى كبح الإصابة بالمسببات المرضية وتحفيز النمو وبالتالي زيادة الإنتاج .
اما بالنسبة للبكتريا فوجد انلها دورا مهما في زيادة مؤشرات الانتاج ويعود ذلك الى عدة آليات حيث أشار (26) ان البكتريا *P. fluorescens* تعود الى مجموعة Rhizobacteria(PGPR,Plant Growth Promoting)وتنتج مركبات خالبة للحديد Siderophores وبالتالي تحرم المسبب الممرض منه، كما ان البكتريا تساعد النباتات في زيادة امتصاص المغذيات المطلوبة وتحسن من جاهزية عنصري الفسفور والنتروجين وتزويد النبات بمركبات مثل الهرمونات النباتية وخالبات الحديد والفيتامينات (24). كما أثبت (22) ان البكتريا *P. fluorescens* و*P.putida* من أهم أنواع PGPR المنتجة لمنظمات النمو وتنتج Auxine الذي يعد أحد أهم أسباب زيادة الحاصل في النباتات الملقحة بهذه البكتريا.

ان وجود هذه البكتريا حول جذور النبات يحفز المقاومة الجهازية للنبات (37) وان اتحاد هذه البكتريا مع النبات يؤدي الى تنشيط مسار الاشارة الذي يقود الى المقاومة المكتسبة الجهازيةISR(11).لا يقتصر عمل الانواع البكتيرية سواء بشكل مفرد اوخليط على تحفيز المقاومة فقط وانما يتعداه الى تحسين نمو النبات وان سبب الخفض في نسبة وشدة الاصابة والزيادة الحاصلة في اطوال المجموع الخضري والجذري والوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري في هذه التجربة تعود الى اليات مختلفة مباشرة وغير مباشرة و هذه الاليات يمكن ان تكون نشطة في ان واحد او بالتتابع في مراحل مختلفة من نمو النبات حيث وُضعت عدة نظريات لتفسير تحفيز نمو ومقاومة النبات بواسطة هذه العوامل وكان من أكثرها شيوعاً افراز المضادات الحياتية وانتاج مركبات منافسة لعناصر كيميائية يحتاجها الممرض في تطوره وانتاج منظمات النمو النباتية فضلاً عن تحرير عمل الجينات المشغلة operator genes عن طريق فك ارتباطها بجزيئة بروتين الكابح Repressor (28)

ان بكتريا *B. subtilis* تزيد من جاهزية بعض العناصر الغذائية للنبات، ولها المقدرة على استحثاث المقاومة الجهازية ISR في النبات، وتعد احد أهم عوامل المكافحة الأحيائية للمسببات الممرضة في النبات، فضلاً عن قدرتها التنافسية على الغذاء والمكان (39) في حين اتفق العديد من الباحثين على ان البكتريا *B.subtilis* تستحث المقاومة الجهازية في النباتات المعاملة بها عن طريق انتاج H_2O_2 في خلايا الجذور (27). اوضحت النتائجتفوق معاملة فطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* تفوقا معنويا بإعطائها اعلى معدل للوزن الطري للنبات والتي بلغت 8.164 غم . تتفق هذه النتائج مع ما اشار اليه (4و5) قياسا بالمقارنة التي بلغت 5.213 غم , في حين ان معاملة الفطر الممرض *R. solani* عملت على تقليل الوزن الطري للنبات والتي بلغت 3.558 غم والسبب يعود الى ان الفطر الممرض له قدرة على احداث تأثيرات سلبيه في النباتات المصابة تتمثل في قلة في النمو وصغر الحجم بشكل عام للنبات وبالتالي يكون النبات المصاب اقل وزنا, و ان معاملة البكتريا *P. fluorescens* لم تختلف معنويا عن معاملة المبيد الكيميائي Topsin-M والتي اعطت نفس النتيجة التي بلغت7.863 %اما بالنسبة لمعدل الوزن الجاف فقد تفوقت معاملة *B. subtillis*+ *P. fluorescens* +*R.solani* تفوقا معنويا عن بقية المعاملات اذ بلغت 0.920 غم قياسا بمعاملة المقارنة اذ بلغت 0.208 غم , في حين ادت المعاملة *R. solani* + Topsin-M الى تقليل الوزن الجاف اذ بلغ 0.101 غم , كما ان معاملة *P. fluorescens*+ *R. solani* + Topsin-M اذ بلغت 0.513 غم التي لم تختلف معنويا عن معاملة *B. subtillis*+ Topsin-M+ *R. solani* اذ بلغت 0.415 غم . اتفقت هذه النتائج مع كل من(16) .

وتفسير ذلك ان الزيادة في الوزن الرطب والجاف ربما ترجع الى دور المواد الكيميائية في حماية المحاصيل من تاثير الافات المختلفة وبالتالي زيادة انتاجها وهذا ما اكده (20). اما سبب زيادة الوزن الرطب للمجموع الجذري ربما يعود الى تراكم الهرمونات النباتية وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (34).

ان لفطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* القابلية على افراز العديد من الانزيمات التي تعمل على تثبيط أنزيمات الفطر الممرض فضلا عن إفرازه لبعض المواد المشجعة لنمو النبات أو إلى قابلية الفطر الإحيائي على تحفيز نمو النباتات من خلال إفراز منظمات نمو نباتية تعمل بتوافق مع آليات أخرى منها زيادة جاهزية وامتصاص العناصر المغذية للنبات (18) ، كما يمتلك القابلية على انتاج المضادات الحياتية (13) وجد ايضا ان للفطر الحيوي قابلية على انتاج المضادات الحيوية مثل Trichodermol و Trichodermin و Gliotoxine و pachybasi و Emodin و Chrysophancol (25) وللفطر *T. harzianum* قدرة على كبح عمل الممرضات النباتية من خلال عدة آليات كالمنافسة على الموقع والغذاء والتضاد الحياتي لها وإفراز كثير من الإنزيمات المحللة لجدر خلايا العائل الممرض ، وتحفيز مقاومة العائل النباتي ضد المسبب المرضي (7)

جدول (1): تأثير الفطر *R.solani* مع فطريات المكافحة الاحيائية في اطوال المجموع الخضري والجذري والوزن الطري والجاف لنبات البيتونيا

المعاملات	قياس اطوال النبات (سم)		وزن النبات (غم)	
	الخضري	الجذري	الطري	الجاف
Control	14.3	9.6	5.213	0.208
Rhizoctonia solani	8.6	1.8	3.558	0.104
Trichoderma harzianum	17.9	11.1	8.164	0.204
Bacillus subtillis	13.1	11.0	6.159	0.133
Pseudomonas fluorescens	13.5	10.1	7.863	0.204
Topsin-M	14.1	9.1	7.863	0.151
R. solani + *T. harzianum*	13.3	10.0	4.868	0.079
R. solani +*B. subtillis*	10.3	8.6	7.407	0.057
R. solani + *P. fluorescens*	13.6	9.8	5.364	0.169
R. solani + Topsin-M	14.3	48.	7.033	0.101
T. harzianum + *B. subtillis*	12.5	10.3	5.240	0.118
T. harzianum + *P. fluorescens*	13.3	11.5	6.871	0.132
T. harzianum + Topsen-M	14.8	11.6	6.907	0.330
B. subtillis+ *P. fluorescens*	13.1	10.8	6.664	0.089
B. subtillis+ Topsen-M	14.6	10.1	6.592	0.108

0.122	5.601	11.3	14.1	*P. fluorescens* + Topsen-M
0.398	5.659	11.7	12.2	*T. harzianum* + *B. subtillis* + *R.solani*
0.374	5.851	10.0	12.0	*T. harzianum* + *P. fluorescens* + *R. solani*
0.123	6.142	9.6	11.9	*T. harzianum* + Topsin-M + *R. solani*
0.920	5.764	10.3	12.6	*B. subtillis*+ *P. fluorescens* +*R.solani*
0.415	6.683	10.1	12.8	*B. subtillis*+ Topsin-M+ *R. solani*
0.513	6.039	10.2	12.8	Topsin-M +*P. fluorescens*+ *R. solani*
0.2696	1.0253	1.0247	1.0758	L.S.D = 0.05

قياس مساحة الورقة والكلوروفيل لنبات البيتونيا

اوضحت النتائج تفوق معاملة *T. harzianum* تفوقا معنويا بإعطائه اعلى معدل للمساحة الورقية التي بلغت 80.3 سم^2 مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت 47.0 سم^2 للمساحة الورقية في حين ان معاملة الفطر الممرض *R.solani* ادت الى نقصان المساحة الورقية لنبات البيتونيا حيث بلغت 36.6 سم ^{2} , وان معاملة *T. harzianum* + *P. fluorescens* التي بلغت 57.3 سم^2 لم تختلف معنويا عن معاملة *T. harzianum* + Topsen-M التي بلغت 56.3 سم^2 . وتتفق هذه النتائج مع (5) .وهذا يعود الى تأثير عوامل المقاومة الاحيائية في تحسين خواص التربة الفيزيائية والكيميائية من مسامية التربة والاحتفاظ بمستوى رطوبي مناسب وإعطائها عناصر غذائية ضرورية للنبات (31)،و بالتالي زيادة المساحة الورقية. و ان زيادة المساحة الورقية قد يعزى ذلك الى ان حامض السالسيلك يعمل على الاسراع في تكوين صبغات الكلوروفيل والكاروتين وتسريع عملية البناء الضوئي وزيادة نشاط بعض الانزيمات المهمة والتي تنعكس ايجاباً على المساحة الورقية (19)و وجد ان زيادة المساحة الورقية في معاملة الفطر الحيوي *T. harzianum* يعود الى المقاومة الجهازية المستحثة اذ وجد ان المقاومة الجهازية يرافقها تراكم بروتينات ومركبات اخرى (35).

اكده Gore و Altin (17) أن البكتريا *P.fluorescens* تعمل على زيادة المساحة السطحية للأوراق اوضحت النتائج تفوق معاملة الفطر *T. harzianum* تفوقا معنويا بإعطائها اعلى معدل لنسبة الكلوروفيل الكلي حيث بلغت 7.381 ملغم . 100 غم . وزن طري قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت 2.610 ملغم . 100 غم . وزن طري في حين ان معاملة الفطر الممرض *R.solani* ادت الى خفض نسبة الكلوروفيل الكلي الذي بلغ 1.148 ملغم . 100 غم وزن طري، تتفق هذه النتائج مع (10) , وان معامل*T.harzianumfluorescens* + *R. solaniP.*التي بلغت 7.003 ملغم . 100 غم وزن طري لم تختلف معنويا عن معاملة *B. subtillis*+ Topsin-M+ *R. solani*التي بلغت 6.086 ملغم . 100 غم وزن طري .

ان الفطر *T. harzianum* يعمل على تثبيط أنزيمات الفطر الممرض فضلا عن إفرازه لبعض المواد المشجعة لنمو النبات أو إلى قابلية الفطر الإحيائي على تحفيز نمو النباتات من خلال إفراز منظمات نمو نباتية تعمل بتوافق مع آليات أخرى منها زيادة جاهزية وامتصاص العناصر المغذية للنبات (18) حيث يعمل على تشجيع نمو النبات وتحسينه مما سبب زيادة في وزن المجموعين الخضري والجذري وزيادة نسبة الكلوروفيل قياسا مع معاملة المقارنة ، وقدرته على انتاج مواد مضادة تقلل من نمو الاحياء الضارة لنمو النبات (38) .

اما بالنسبة للبكتريا*P. fluorescens* تزيد من محتوى الاوراق من الكلوروفيل يرجع سبب ذلك الى عمل البكتريا على توفير العناصر الغذائية المهمة للنبات مثل الفسفور والنتروجين والبوتاسيوم فضلا عن أنها تجعل المكونات الغذائية بشكل جاهز للنبات والتي تؤدي إلى زيادة نمو المحاصيل وهذا ينعكس ايضاً على زيادة نسبة الكلوروفيل (17)

جدول (2) : تأثير الفطر *R.solani* مع فطريات المكافحة الاحيائية في مساحة الورقة لنبات البيتونيا (سم^2) ومحتوى الكلوروفيل

الكلوروفيل %	مساحة الورقة (سم^2)	المعاملات
2.610	47.0	Control
1.148	36.6	*Rhizoctonia solani*
7.381	80.3	*Trichoderma harzianum*
6.291	48.6	*Bacillus subtillis*
6.478	53.3	*Pseudomonas fluorescens*
6.123	42.1	Topsin-M
6.892	46.5	*R. solani* + *T. harzianum*
5.855	47.5	*R. solani* + *B. subtillis*
6.544	49.6	*R. solani* + *P. fluorescens*
6.007	45.6	*R. solani* + Topsin-M
6.492	51.3	*T. harzianum* + *B. subtillis*
5.932	57.3	*T. harzianum* + *P. fluorescens*
6.802	56.3	*T. harzianum* + Topsen-M
6.728	56	*B. subtillis*+ *P. fluorescens*
4.409	40.6	*B. subtillis*+ Topsen-M
6.534	54.0	*P. fluorescens* + Topsen-M
6.209	36.8	*T. harzianum* + *B. subtillis* + *R.solani*
7.003	39.5	*T. harzianum* + *P. fluorescens* + *R. solani*
6.290	38.8	*T. harzianum* + Topsin-M + *R. solani*
6.989	39.8	*B. subtillis*+ *P. fluorescens* +*R.solani*
6.086	42.1	*B. subtillis*+ Topsin-M+ *R. solani*
5.814	37.1	Topsin-M +*P. fluorescens*+ *R. solani*
1.2011	8.006	L.S.D = 0.05

الصورة (1): توضح تاثير بعض العوامل الحيوية والفطر الممرض على مؤشرات نمو نبات البيتونيا في الاصص البلاستيكية بعد 40 يوم من الزراعة

A-تـأثير الفطـر الممـرض *R. solani* علـى نمـو نبـات البيتونيـا .(B)-تـأثير فطـر المقاومـة الحيويـة *T. harzianum* علـى نمـو نباتـات البيتونيـا . (C)–المقارنـة (control) . (D)- تـأثير نـوعي البكتريـا *B.subtillis*+ *P. fluorescens* على نمو نبات البيتونيا

المصادر

1- ابراهيم , ابراهيم علي وصالح حسن سمير . 2015 . فاعلية مبيد البلتانول والعوامل الاحيائية في مقاومة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* على بادرات القطن . مجلة العلوم الزراعية العراقية – 46 (3) : 385 – 392 .

2- الجلبي . سامي ونسرين خليل الخياط.2013 . نباتات الزينة في العراق .الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة . كلية الزراعة جامعة بغداد .جمهورية العراق .

3- الخفـاف ، ألاء عبـد علـي .2006. مقاومـة مـرض مـوت بـادرات الخيـار المتسـبب عـن الفطـر *Pythium aphanidermatum(Edson)Fitz* بالمبيـدين الحيـويين فلوراميـل والباسـلينوالمبيد الكيميـائي بيلتانول ودورهما في تحسين صفات النمو والانتاج. أطروحة دكتوراه. كلية التربية .جامعة الكوفة. جمهورية العراق .

4- الشبلي , ماجد كاظم عبود . 1998. المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة والفطريات الثانوية المرافقة لبذور الرز . رسالة ماجستير . كلية التربية –جامعة القادسية .العراق .
5- الطائي , ازهر حميد فرج . 2014 . تاثير انواع الفطر *Aspergillus* spp. والفطر *Trichoderma harzianum*. في نمو نبات الخيار Cucumis sativus المزروع في اوساط زرعيه بديلة. اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة الكوفة .
6- العاشور ، علي جابر جاسم . 2005 . امكانية إنتاج مستحضر حيوي من بكتريا *Bacillus cereus* للسيطرة على بعض الفطريات المسببة لسقوط البادرات . رسالة ماجستير – كلية العلوم . جامعة الكوفة . جمهورية العراق.
7- حميد ، فاخر رحيم. .2002. دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* وتحفيز النمو في أربعة أصناف من الفطر. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.
9- سلطان واخرون . سالم محمد وطلال محمود الجلبي ومحمد داود الصواف . 1992 . نباتات الزينة . جامعة الموصل . وزارة التعليم العلمي العالي والبحث العلمي . العراق .
10- ظاهر ،حوراء رزاق .2016. تقويم كفاءة بعض منظمات النمو النباتية والبكتريا *Pseudomonasfluorescens* والفطر *Pleurotus ostreatus* في استحثاث مقاومة نبات الخيار *Cucumis sativus* ضد الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*،رسالة ماجستير–كلية الزراعة. جامعة الكوفة . جمهورية العراق .
11- فهمى، فكري جلال محمد . 2006 . علم الفايروسات النباتية Phytovirology . دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع، مصر. 224 صفحة.

12-Agrios , G. N. 1997 . Plant pathology . 4th Ed . 606 pp. Academic press , New York .USA .
13-Ainizzati , M. Z. and F. Abdullah ,2008 . Disease suppression in *Ganoderma* – infected oil palm seedlings treated with *Trichoderma harzianum* . Plant Protected Science , 44 :101 – 107 .
14- Dewan,M.M.1989 Identity And Frequency Of Occurrence Of Fungi In Root Of Wheatand Rye Grass And Their Effect On Take-All And Host Growth. Ph. D. ThesisUniv. West Australia,210 Pp.
15-Domsch, K.H,W. Gams , and Anderson, T.H. 2003. Compendium of soil fungi . Academic Press , London England .pp. 894.
16- El-Mohamedy , R .S.R ; E.H ;Abd El-Samad , A.M. ; Hoda, T.Sh.; Habib, and Fath El-Bab .2011. Effect of using bio-control agents on growth , yield, head quality and root rot control in broccoli plants, international. J .of acad . res. 3:71 – 80.
17-Gore , M. E. and N. Altin , .2006. Growth promoting of some ornamental plants by treatment with specific *pseudomonas* . Biological Sciences, 6 (3) : 610-615 .
18-Harman , G.E. .2000. Myths and Dogmas of biocontrol change in perceptions derived from reseaech on *Trichoderma harzianum* strain T-22. Plant Disease, 84: 377-393.
19- Hayat,S.; B.Ali and.Ahmad.A .2007. Salicylic Acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plants.In: S. Hayat and A.Ahmad :Salicylic acid: A plant hormone. Springer, Netherlands. pp. 1-14.
20- Kainath, A. B. 2000. Effect of protectant fungicaide applicetion schedules on gummy stem blight epidemic and maketable yield of watemelon Plant Disease. 84: 250 – 254.
22- Khakipour, N., K., Khavazi. H. Mojallali, ,E. Pazira, and Asadirahmani, H. (2008) Production of Auxin Hormone by Fluorescent *pscudomonsa.* American Eurasian. J. Agric. &Environ . Sci, 4 (6) : 687 -692.
23-Kleifeld , O.; and I. Chet, 1992. *Trichodema* – Plant ineraction and its effect on increased growth response . Plant Soil ,144 : 267 – 272 .

24-Kloepper , J.W.,C.M. Ryu and.ZhangS.2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp Phytophthology, 94:1259-1266.Knowledgia Review. Malaysia .

25-Kuguk , C. and M . Kivang ,. 2002 . Isolation of *Trichoderma* spp determination of their antifungal , biochemical and physiological featurd . Turky , J. Biol, 27:247-253.

26- Lopper, J. E.,1988 . Role of fluorescens siderphore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens*strain, Phytopathology. 78: 166-172.

27- Jourdan M., E, A. adam , M. Paquot, A. Brans , B. Joris , Ongena . Arptany and P. Thonart. 2007. Surfaction and fengycin lipoeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plant. Environmental Microbiology . (

28-Maheshwari , D. K. , V.B. Figueiredo , L. Seldin , F.F. Araujo ,and Mariano.2010 . Plant Growth And Health Promoting Bacteria , Microbiology Monographs.R.L. R. 18.

29- Morsy.E.M;A K.A bdel-Kawi..andKhalil.M.N.2009.Efficiency of *Trichodermaviride* and *Bacillus subtilis* as Biocontrol agents gainst *Fusarium solani* on tomato plants .pp.47-57.

30- Parmeter , J.R. and H..S. Whitney , 1970 Taxonomy and nomenclature of theimperfect state in : *Rhizoctonia solani* biology and pathology. (ed.). (JR. Parameter. University of California Barkely. Los Angeless. USA). pp. 7-19.

31- Pilar, M. ;U. Miguel, and Elizabeth B. 2012. Vegetable waste compost used as substrate in soilless culture, crop production technologies, Dr. Peeyush Sharma (Ed.), InTech. pp. 276.

32- Robbins, J.A. And W.M. Colt,. 2008. Herbaceous Ornamentals. The Idaho Master Gardener Program Handbook (IDAHO), Chapter 18: Pp. 29. Role in Disease Management.Research Journal of Nanoscience root colonizing *Pseudomanas* spp. and relevance for biological control of plant disease. Annul Rev. Phytopathol,41 : 117 – 153.

33- Saad, M.M. 2006 Destruction of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici* causing Tomato root- rot by *Pseudomonas fluorescens* Lytic enzymes . Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2(6) :274 -281.

34-Sakhabutdinova , A.R. D.R.; Fatkhutdinova; M.V. Bezrukova , and Shakirova , F.M. 2003. Salicylic acid prevents the Damaging Action of Stress Factors on wheat plants. BULG. J. Plant Physiol. Special Issue : 314-319

35-Sequeira , L. 1983 . Mechanisms of induced resistance in plant . Ann Rev .Microbiology , 37:51-79.

36-Sinclair, J. B. 1982. Compendium of soybean disease 2nd ed. American phytopathologyical Soc. St. Paul. MN. pp.: 104.

37- Ton; J.; J.A.V. Pelt ; L.C. Vallon and Pieterse C.M.J.; 2002. Differential Effectiveness of salicylate-Dependent and Jasmonate / Ethylen-Dependent induced Resistance in Arabidopsis. Molecular Plant Microbe Interaction S. 15:27-34.

38- Windham, M.T; Y. Elad, and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology, 76: 518-521.

39- Yazdani; M.; H. Bagheri; A. Ghanbari-Malidarreh; P. Rahdari and Motevalli S..2011 Evaluation Effects of P-solubilizer (PSM) and plant growth promoting Rhizobactria (PGPR) on morphologic indices of corn (*Zea mays L.*). Advances in Environmental Biology. 5 (13): 3782 – 3786.

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

Assessment The effect of some bio-control agents and Topsen-M in the controlling Root- rot disease on *Petunia* plants

Fadhal Al- Fadhal Muntadher Muhsin Kadhim Aljanab
Faculty of Agriculture University of Kufa
Republic of Iraq

Abstract

This study was conducted to determine the efficacy of two bacterial(*Bacillus subtilisand Pseudomonas fluorescens*) and one Fungus*(Trichoderma harzianum)* as bio - control agents and Topsin – M fungicidein controlling root- rot disease of petunia plants caused by*Rhizoctonia solani* in thegreenhouse.

Conditions . the results of a pots experiment showed that both fungal and bacterial bio- control agents and all bio-agents andTopsin – Mtreatments enhanced the percentage of seed germination which reached 100 %compared with control treated (0.0 %). They also reduced the con contraction of *R. solani* in the plant roots increased some of growth parameters such as plant content of chlorophyll .

For example, the plant length was significantly increased in the treatments in volving application of only and *B. subtilis* in combination with Topsin – M with a mean of 17.9 and 14.6 cm /plant respectively , compared with 14.3% cm/plant in the control treatment. The results showed that the betters increased in fresh weight of plant was in *T. harzianum andP. fluorescens*treatments which was 8.164% and 7.863% respectively compared to control 5.213% The leaf area of plants treated with *T. harzianum* only or in combination with *P. fluorescens* were 80.3 and 57.3 respectively compared with 47 in the control treatment. Chlorophyll content of plants treated with *T.harzianum*only or those treated with *T.harzianum*+ *P. fluorescens* + *R. solani* were 7.381 and 7.003 % respecting companied with 2.610 % in the control treatment.