

# \* دراسات فسلجية لعزلات من عوائل نباتية مختلفة للفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid وامراضيتها على موت وتعفن بذور الباميا

احمد محمد حسين

أ.د. مجيد متعب ديوان

جامعة الكوفة / كلية الزراعة

## الخلاصة

أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *Macrophomina phaseolina* على جميع النباتات التي ظهرت عليها اعراض مرض التعفن الفحمي , وتم عزل الفطر بصورة نقسية من نباتات الباميا وزهرة الشمس واللوبياء والسمسم والبطيخ والبطاطا والديونيا والدقلم. بينت النتائج ان عزلة الباميا2 اسرع العزلات نمواً على الوسط الغذائي P.D.A. اذ بلغت 8.5 سم في اليوم الثالث من الحضن على درجة حرارة 27+2 م° بينما تفوقت عزلة زهرة الشمس2 على باقي العزلات في تكوين الاجسام الحجرية اذ كونت 100 و188 و244 جسم حجري/ الحقل المجهري (10 x) في اليوم الثالث والرابع والخامس على التوالي وكانت اشد عزلات الفطر *M.phaseolina* تأثيراً على النسبة المئوية لأنبات البذور واطوال واوزان البادرات هي عزلة الباميا2 في حين كانت عزلة الدقلم أدناها إمرضية على بذور الباميا , وظهرت نتائج دراسة المقدرة التضادية لعزلاتي فطر المقاومة الحيوية *Trichoderma harzianum* التحدي والاسترالية قدرة تضادية متفاوتة تجاه الفطر الممرض *M.phaseolina* إذ بلغت مسافة التثبيط لعزلة التحدي 1.8 سم بينما لعزلة الاسترالية بلغت 2.3 سم , كما أظهر الفطر *Emericella nidulans* قدرة تضادية عالية ضد الفطر *M.phaseolina* إذ بلغت مسافة التثبيط 2.2 سم . سجل أفضل نمو قطري وتكوين اجسام حجرية للفطر في درجة الحرارة 30 م° بينما توقف النمو القطري وتكوين اجسام حجرية تماماً عند صفر و 50 م° كما وبينت الدراسة ان أفضل نمو قطري للفطر *M.phaseolina* كان في الماء المقطر اذ بلغ 8.5 سم بينما اعطى المستوى الملحي 10 ديسمنز/م أعلى عدد للاجسام الحجرية بلغ 105 جسم حجري للحقل المجهري . لوحظ ان اعلى نمو قطري واجسام حجرية كان في ظروف الحضن في الظلام حيث بلغ 8.5 سم و91.6 على التوالي بينما عند تبادل الضوء والظلام كان 7.75 سم و 70.3 على التوالي في حين اعطى الضوء المستمر 2.25 سم و29.5 جسم حجري على التوالي ايضاً.

## المقدمة Introduction

تعود الباميا *Hibiscus esculentus L.* إلى العائلة الخبازية Malvaceae , وتعد من الخضر المهمة في العراق (مطلوب وآخرون، 1989) وهي غنية ببعض العناصر الغذائية كالكالسيوم والمغنسيوم والفسفور كما أنها تحتوي على بعض الفيتامينات بنسب متوسطة مثل فيتامين C وفيتامين A (Anonymous ، 1977) . يعد الفطر *M.phaseolina* من الفطريات ذات المدى العائلي الواسع والذي يصيب أكثر من 500 نوعاً نباتياً (Sinclair ، 1984) . كما إن الإصابة بهذا الفطر تزداد كلما تعرض النبات لعوامل الإجهاد البيئي كارتفاع درجة الحرارة وقلة الرطوبة (Almeida وآخرون، 2003) . وقد أشار كثير من الباحثين الى أن عزلات هذا الفطر تميل الى اختيار عائلها وتكون متخصصة بيئياً، وان العزلات المعزولة من نوع نباتي معين تكون أكثر ملائمة لإصابة هـذا النوع من العوائل النباتية الأخرى (Pearson وآخرون ، 1986) . ونظراً لأهمية نبات الباميا ولكون مرض التعفن الفحمي من الامراض المهمة في العراق فقد جاءت هذه الدراسة بهدف دراسة المدى العائلي للفطر *M.phaseolina* . واختبار القدرة الامراضية للعزلات المعزولة من العوائل المختلفة على انبات البذور ونمو نباتات الباميا و تقويم كفاءة عزلتي التحدي والاسترالية للفطر *Trichoderma harzianum* والفطر *Emericella nidulans* في مقاومة الفطر الممرض المذكور.

## مواد وطرائق العمل

### 1-2 عزل وتشخيص الفطر *M.phaseolina*

جلبت عينات من نباتات الباميا و زهرة الشمس والدقلم والديونيا واللوبياء والخس البري والبطاطا والبطيخ المتواجدة من حقول كلية الزراعة والاراضي الزراعية والمناطق القريبة منها والتي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض التعفن الفحمي بشكل واضح والمتمثلة بجفاف النبات وتلون قاعدة الساق بلون اسود مع تقشر قاعدة الساق ووجود الاجسام الحجرية السوداء منتشرة في قشرة ولب النبات الى المختبر. غسلت قواعد سيقان النباتات والمجموع الجذري بماء الحنفية لغرض

التخلص من الأتربة والعوالق الأخرى قطعت الى قطع صغيرة بطول 1-0.5 سم ثم عقت بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة 2-3 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم. وضعت على ورق ترشيح معقمة لإزالة الماء الزائد منها ثم زرعت بواقع خمس قطع نباتية في كل طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي (P.D.A. Potato Dextrose Agar) مضاف له المضاد الحيوي Chloroamphenicol بتركيز 250 ملغم/لتر ثم وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 27 ± 2 م° لمدة خمسة أيام. بعد ذلك تم تنقية عزلات الفطر وذلك بنقل أجزاء لنموات الفطر من حواف المستعمرات بواسطة إبرة معقمة الى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي P.D.A. المعقم وحضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 27 ± 2 م° لمدة خمسة أيام بعدها شخص الفطر اعتماداً على الصفات التصنيفية المذكورة في Sinclair (1982)

## 2-2 اختبار سرعة النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية لعزلات الفطر *M.phaseolina*

اجريت تجربة لقياس سرعة النمو القطري لعزلات الفطر *M.phaseolina* والاجسام الحجرية التي تكونها حيث تم زراعتها بصورة نقية في اطباق بتري حاوية على 20 مل من الوسط الغذائي P.D.A. ووضعها بالحاضنة بدرجة حرارة 27 ± 2 م° وبعد مرور ثلاثة ايام تم اخذ قياسات النمو القطري للجزل الفطري للعزلات المختلفة وتم عد الاجسام الحجرية المتكونة في الحقل المجهرى بقوة تكبير 10 X حيث استخدمت مسافة واحدة للحقل المجهرى تبعد 1 سم عن مركز المستعمرة . حيث تم عد الاجسام الحجرية بعد مرور 3 و 4 و 5 يوم من الحضن .

## 3-2 تأثير الفطر *M.phaseolina* في انبات بذور الباميا واطوال واوزان البادرات.

زرعت عزلات الفطر *M.phaseolina* على الوسط الغذائي P.D.A. , ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 27 ± 2 م° وبعد يومين من نمو العزلات زرعت بذور باميا معقمة بالفاسط بشكل دائري حول المستعمرات الفطرية بواقع عشرة بذور في كل طبق , كررت كل معاملة ثلاث مرات , اجريت معاملة سيطرة وذلك بزراعة البذور على نفس الوسط ولكن بدون فطر , بعد ذلك اعيدت الاطباق الى الحاضنة , وبعد مرور عشرة ايام تم حساب نسبة الانبات وكما في المعادلة التالية

$$\frac{\text{عدد البذور النابتة}}{100 \times} = \text{النسبة المئوية للانبات} =$$

كما تم حساب اطوال واوزان البادرات . عدد البذور المزروعة

## 4-2 اختبار القدرة التضادية لفطريات المقاومة الحيوية عزلتين من الفطر *T.harzianum* و الفطر *E.nidulans* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina*

اعتمدت طريقة Aghighi وآخرون (2004) في اختبار المقدرة التضادية لعزليتي الفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* حيث قسم الطبق البتري قطر 9 سم حاو على وسط غذائي P.D.A. معقم الى أربعة أقسام متساوية ولقح مركز الطبق بقرص 0.5 سم من مستعمرة الفطر الممرض *M.phaseolina* بعمر 72 ساعة. ولقح كل قسم من الأقسام الأربعة وعلى مسافة 3 سم من مركز الطبق بقرص 0.5 سم من عزليتي فطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* كل على انفراد ومرة اخرى بالفطر *E.nidulans* اما معاملة المقارنة تضمنت تلقيح مركز الطبق بقرص مماثل من مستعمرة الفطر الممرض *M.phaseolina* فقط. نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة وحضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 27 ± 2 م° لمدة 4 أيام. تم تحديد القدرة التضادية لفطر المقاومة الحيوية تجاه الفطر الممرض عند وصول نمو الفطر الممرض في معاملة المقارنة الى حافة الطبق وذلك بطرح مسافة نمو الفطر الممرض من جهة التضاد المباشر مع الفطر الاحيائي من المسافة الكلية بين الفطرين (3 سم) وفق المعادلة التالية:  $B - A = C$  حيث ان  $A =$  المسافة الكلية بين الفطرين (3 سم) و  $B =$  مسافة نمو الفطر الممرض *M.phaseolina* من جهة التضاد و  $C =$  المسافة المتبقية (منطقة التثبيط) وعليه يمكن تصنيف منطقة التثبيط الى ثلاث فئات وفقاً الى القدرة التضادية للفطر حيث يعد فطر المقاومة الحيوية ذا قدرة تضادية عالية للفطر الممرض إذا كانت قيمة  $C =$  اكثر من 2 سم ويرمز لها (+++) ومتوسطة إذا كانت  $C =$  اقل من 2 - 1 سم ويرمز لها بالرمز(++) و ضعيفة إذا كانت قيمة  $C =$  اقل من 1 سم ويرمز لها بالرمز (+).

## 5-2 تأثير تراكيز ملحبة مختلفة في الوسط الغذائي P.D.A. في النمو القطري (سم) واعداد الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* استخدمت التراكيز الملحبة 2 و 4 و 6 و 8 و 10 و 12 و 14 و 16 و 18 و 20

ديسمنز/م باستخدام الوسط الغذائي P.D.A. وملح كلوريد الصوديوم حيث ضبطت التراكيز الملحية باستخدام جهاز EC-meter ، استخدمت هذه التراكيز باضافتها الى الوسط الغذائي P.D.A. المعقم بجهاز التعقيم البخاري . صب الوسط المعامل بالتراكيز المذكورة كل على انفراد في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم ثم لقع مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة حديثة للفطر *M.phaseolina* عملت ثلاث مكررات لكل تركيز ملحي مع الاخذ بنظر الاعتبار عمل مقارنة من الوسط الغذائي P.D.A. مضاف اليه ماء مقطر فقط وحضنت الاطباق في درجة حرارة  $27 \pm 2$  م لمدة ثلاثة ايام وتم حساب النمو القطري للفطر *M.phaseolina* بأخذ معدل قطريين متعامدين يمران من مركز الطبق، وتم حساب اعداد الاجسام الحجرية المتكونة في التراكيز الملحية المذكورة في الحقل المجهرى بقوة تكبير 10 X وبمسافة 1 سم من مركز نمو المستعمرة لجميع التراكيز والمقارنة .

## 6-2 دراسة تأثير درجات الحرارة على نمو وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina*

استخدم الوسط الغذائي P.D.A. المعقم حيث صب الوسط في أطباق بتري ولقع مركز كل طبق بقرص 0.5 سم من مستعمرة نقيه وحديثة للفطر *M.phaseolina* . حضنت الأطباق على درجة حرارة 5 و 10 و 15 و 20 و 25 و 30 و 35 و 40 و 45 و 50 م عملت ثلاث مكررات لكل درجة حرارة ، تم حساب النمو القطري للفطر في كل درجة حرارة ، كما تم حساب اعداد الاجسام الحجرية لكل مستوى كما ذكر سابقاً.

## 7-2 تأثير الأس الهيدروجيني (pH) في نمو وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina*.

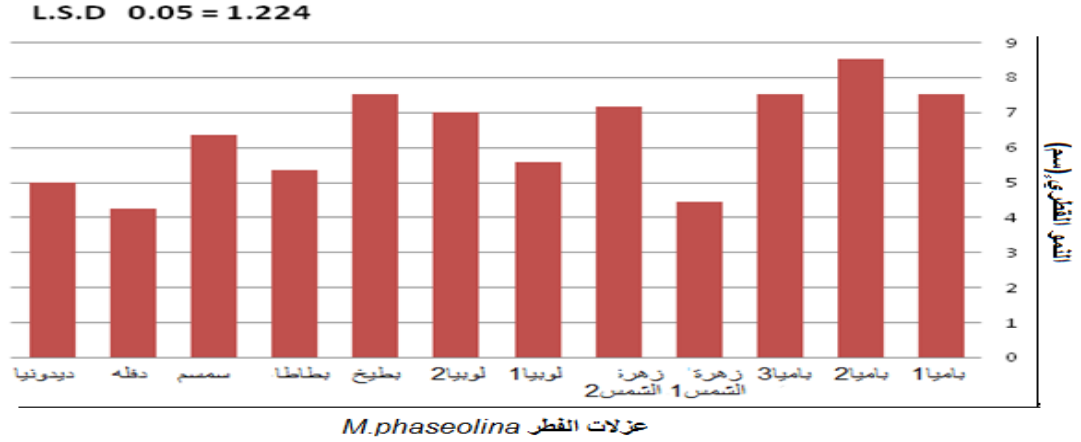
تم تنظيم الأس الهيدروجيني (PH) للوسط الغذائي P.D.A. وذلك باضافة حامض اللاكتيك وهيدروكسيد الصوديوم بعمل تسعة مستويات هي 5 و 5.5 و 6 و 6.5 و 7 و 7.5 و 8 و 8.5 و 9 بواسطة جهاز pH-meter نوع DIGI 520 ألماني المنشأ ، وعُقم الوسط بجهاز التعقيم البخاري وصب في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم ثم لقع مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة حديثة للفطر *M.phaseolina* عملت ثلاث مكررات لكل مستوى من الاس الهيدروجيني ، وحضنت الاطباق في درجة حرارة  $27 \pm 2$  م لمدة ثلاثة ايام . وتم حساب النمو القطري للفطر *M.phaseolina* واعداد الاجسام الحجرية لكل مستوى كما ذكر سابقاً.

## 8-2 تأثير الضوء والظلام على النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina*

استخدم الوسط الزراعي P.D.A. المعقم بالموصدة والمضاف له المضاد الحياتي Chloramphenicol ، صب الوسط في أطباق بتري قطر 9 سم ، لقع مركز كل طبق بقرص 0.5 سم اخذ من حافة مزرعة نقيه وحديثة للفطر *M.phaseolina* . وضعت ثلاثة اطباق في كيس بلاستيك سميك اسود اللون حاجب للضوء ، وثلاث اطباق في كيس شفاف ، وثلاث اطباق اخرى يتبادل فيها الكيس الشفاف مع الكيس الاسود كل 12 ساعة، ثم نقلت هذه الاطباق الى الحاضنة بدرجة حرارة  $27 \pm 2$  م وبعد مرور ثلاثة ايام تم قياس النمو القطري واعداد الاجسام الحجرية المتكونة كما ذكر سابقاً .

النتائج والمناقشة

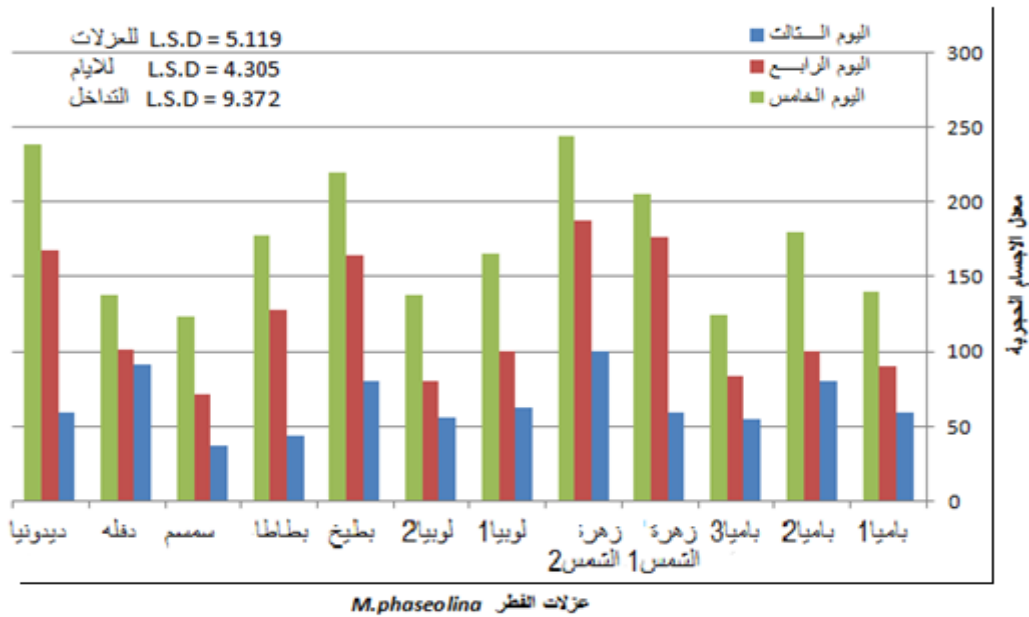
1-3 النمو القطري لعزلات الفطر *M.phaseolina* المختلفة على الوسط الغذائي PDA بعد ثلاثة ايام من الحضن على درجة حرارة  $27 \pm 2$  م . اظهرت النتائج في الشكل (1-3) ان هناك فروقا معنوية واضحة في النمو القطري لعزلات الفطر *M.phaseolina* حيث تفوقت عزلة الباميا2 على جميع العزلات اذ بلغ النمو القطري فيها 8.5 سم في اليوم الثالث فيما اعطت اقل العزلات نمواً عزلة الدفله اذ بلغ النمو القطري لها 4.25 سم . ان الاختلاف الحاصل في سرعة نمو العزلات قد يعود الى التباير الوراثي بينها والاختلاف في القدرة على التمثيل الغذائي لكل منها (Purkayastha وآخرون، 2004).



شكل (1-3) النمو الفطري (سم) لعزلات الفطر *M.phaseolina* على الوسط الغذائي P.D.A. بعد ثلاثة ايام من الحضن على درجة حرارة +27 م.

2-3 عدد الاجسام الحجرية لعزلات الفطر *M.phaseolina* المختلفة على الوسط الغذائي PDA بعد ثلاثة ايام من الحضن على درجة حرارة +27 م.

بينت النتائج وكما موضح في الشكل (2-3) ان عزلة زهرة الشمس 2 تفوقت معنويا على باقي العزلات في تكوين الاجسام الحجرية على الوسط الغذائي P.D.A. , اذ بلغت الاعداد المتكونة 100 و 188 و 244 جسم حجري/ حقل مجهري في اليوم الثالث والرابع والخامس من زراعتها على التوالي , وتلتها عزلة الديدونيا التي كان عدد الاجسام الحجرية التي كونتها 60 و 168 و 238 جسم حجري/ حقل مجهري في اليوم الثالث والرابع والخامس على التوالي ايضا , بينما كانت عزلة السمسم اقلها في تكوين الاجسام الحجرية اذ بلغت 38 و 72 و 124 جسم حجري على التوالي للأيام الثلاثة المذكورة , ان هذا التفاوت بين العزلات في تكوين الاجسام الحجرية قد يعود الى التعاير الوراثي بين هذه العزلات او ربما الى التفاعل الحيوي بينها وبين عوائلها .



شكل (2-3) معدل اعداد الاجسام الحجرية لعزلات الفطر *M.phaseolina* على الوسط الغذائي PD.A. بعد ثلاثة ايام من الحضانة في درجة حرارة 27 + 2 م.

الامراضية لعزلات

*M.phaseolina*  
بادرات الباميا .

تأثير الفطر  
على النسبة  
بذور الباميا  
واوزان (ملغم)

العزلات	النسبة المئوية لأنبات البذور	طول البادرة (سم)	وزن البادرة (ملغم)
الباميا 1	80	2.75	80
الباميا 2	70	2.25	70
الباميا 3	70	3.00	90
زهرة الشمس 1	100	6.00	200
زهرة الشمس 2	90	4.50	150
اللوبيبا 1	90	3.25	180
اللوبيبا 2	70	3.75	100
البطيخ	100	2.75	90
البطاطا	90	3.25	100
السهم	80	3.25	75
الدقلة	100	7.50	300
الديونيا	80	3.50	180
المقارنة	100	8.25	350
L.S.D	9.119	1.075	22.315

3-3 القدرة

الفطر  
على انبات ونمو

جدول (3-1)  
*M.phaseolina*  
المئوية لأنبات  
واطوال (سم)  
البادات.

وجد من النتائج المبينة في الجدول (1-3) والصورة (1-3) ان هناك فروقات معنوية بين عزلات الفطر *M.phaseolina* في النسبة المئوية لانبات بذور الباميا ووزن وطول البادات , حيث اظهرت النتائج ان عزلة باميا2 وباميا3 واللوبيبا2 كانت أكثر العزلات اختزالاً لإنبات البذور إذ بلغت هذه النسب 70% لكل منها قياساً بالمقارنة التي كانت 100% اما عزلات زهرة الشمس1 والدقلة والبطيخ فكانت نسبة الانبات فيها 100% , بينما العزلات الاخرى كانت بين هذه النسب . ويعود سبب هذا التباين في نسبة الإنبات الى ان عزلات الفطر *M.phaseolina* قد تختلف في افرازاتها الانزيمية والسمية التي تستخدمها ضمن اليات التطفل على عوائلها (Mihail, 1992 وWrather وآخرون, 1997) كما ان النتائج اظهرت ان هناك فروقاً معنوية واضحة بين العزلات في وزن البادات فقد تفوقت معاملة المقارنة بالوزن اذ بلغت 350 ملغم بينما ظهر اقل وزن للبادات في عزلة الباميا2 والذي بلغ 70 ملغم كما ان نتائج الجدول (3-1) بينت ايضاً ان هناك فروق معنوية واضحة ظهرت في اطوال البادات النامية فكانت اعلى الاطوال في المقارنة وعزلة الدقلة اذ بلغ الطول فيهما 8.25 و 7.50 سم على التوالي وبدون فروقات احصائية بينما اقل البادات طولاً كانت النامية مع عزلة الباميا2 والذي كان الطول فيها

2.25 سم , هذه النتائج تتفق مع دراسات سابقة والتي اشارت الى اختلاف القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M.phaseolina* على عوائلها والتي ربما يعود السبب في ذلك الى افراز نوعين من الانزيمات endoglucanases والتي لها القابلية على تحليل جدار خلايا النبات ( Jones و Wang ، 1993) وعلى ضوء ذلك تم انتخاب عزلة الباميا 2 لاستكمال الدراسة على الفطر *M.phaseolina* لكونها اكثر العزلات امراضية لبذور الباميا المستخدمة .



صورة (1-3) تأثير الفطر *M.phaseolina* على انبات بذور الباميا أ- بذور باميا معاملة بالفطر  
عزلة *M.phaseolina* باميا 2- بذور باميا غير معاملة

### 4-3 القدرة التضادية لعزتي التحدي والاسترالية للفطر *T.harzianum* و الفطر *E.nidulans* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina*

حققت عزلتي فطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* التحدي و الاسترالية قـدرة تضادية متفاوتة تجاه الفـطر الممرض *M.phaseolina* إذ بلغت مسافة التنبـيط لعزلة التحدي 1.8 سم بينما للعزلة الاسترالية بلغت 2.3 سم وكما موضح في الجدول (2-3). ان هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه العديد من الباحثين فقد توصلت بنيان (2007) الى ان عزلات فطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* اختلفت في قدرتها التضادية ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* . ونلاحظ ايضاً ان الفطر *E.nidulans* له قـدرة تضادية عالية تجاه الفـطر الممرض *M.phaseolina* إذ بلغت مسافة التنبـيط 2.2 سم كما موضح في الصورة ( 2-3) وقد يعود السبب وراء هذا التنبيط الى قدرة الفطر *E.nidulans* العالية في افراز الانزيمات والمضادات الحيوية التي تؤثر على نمو الفطريات (Martin واخرون ، 1985).

### جدول (2-3): الكفاءة التضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina*

العزلة	منطقة التنبيط (C) (سم)	القدرة التضادية
<i>T.harzianum</i> التحدي	1.8	++ متوسطة
<i>T.harzianum</i> الاسترالية	2.3	+++ عالية
<i>E.nidulans</i>	2.2	+++ عالية



الفطر الممرض *E.nidulans* الفطر *T.harzianum* الاسترالية التحدي *T.harzianum* (المقارنة) *M.phaseolina*

صورة (2-3) توضح القدرة التضادية لفطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* بعزلتيه التحدي والاسترالية والفطر *E.nidulans* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* .

### 5-3 تأثير تراكيز ملحية مختلفة في الوسط الغذائي P.D.A. على النمو القطري واعداد الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina*

أظهرت النتائج وكما موضح في الجدول (3-3) انخفاض النمو القطري للفطر *M.phaseolina* عند زيادة المستويات الملحية بصورة تدريجية حيث كان اعلى نمو قطري عند معاملة الماء المقطر بلغت 8.5 سم وبدأ النمو القطري بالانخفاض تدريجيا مع زيادة التركيز الملحي للوسط الغذائي . اما فيما يخص الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* فنجد ان عدد الاجسام الحجرية في الحقل المجهرى (10 x) في معاملة الماء المقطر كان 77 جسم حجري وعند زيادة التركيز الملحي نلاحظ زيادة الاجسام الحجرية الى ان تصل الى 105 جسم حجري عند التوصيل الكهربائي 10 ديسمنز/م , وعند زيادة التركيز الملحي عن هذا الحد فإن اعداد الاجسام الحجرية تبدأ بالانخفاض تدريجيا وان السبب وراء زيادة اعداد الاجسام الحجرية مع زيادة التراكيز الملحية الى ان تصل الى اعلى مستوى عند التوصيل الكهربائي 10 ديسمنز يعود الى أن زيادة الايونات الداخلة في تركيب الملح أدت الى زيادة جاهزية بعض العناصر المهمة لتكوين الاجسام الحجرية . فقد لاحظ Hasan (1998) بان نمو الفطر *Aspergillus wentii* قد ازداد بزيادة تركيز الأملاح وأدى الى زيادة الأحماض الدهنية والستيرول Sterol. وان السبب وراء انخفاض اعداد الاجسام الحجرية عند زيادة التوصيل الكهربائي اكثر من 10 ديسمنز/م يعود الى ان الملوحة فوق هذا الحد تصبح سامة للفطر .

جدول (3-3) تأثير تراكيز ملحبة مختلفة في الوسط الغذائي P.D.A على النمو القطري (سم) واعداد الاجسام الحجرية للفطر

معدل عدد الاجسام الحجرية	معدل النمو القطري (سم)	التوصيل الكهربائي (ديسمنز)
77	8.50	ماء مقطر
83	8.00	2
87	7.33	4
89	7.08	6
98	6.58	8
105	6.16	10
89	6.08	12

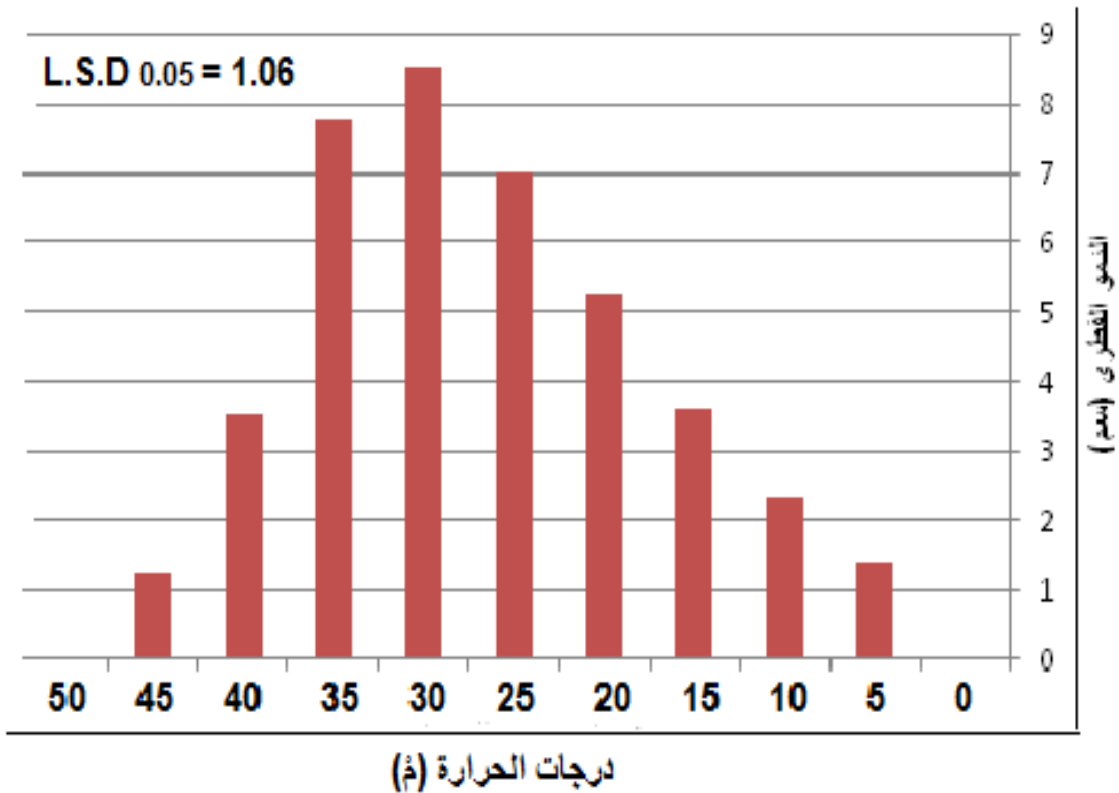
*M.phaseolina*



درجات الحرارة 0 - 50 م على النمو القطري للفطر	79	5.83	14	6-3 تأثير
	60	5.41	16	
	49	5.16	18	
	35	4.25	20	
	10.319	0.325	L.S.D	

### *M.phaseolina* بعد ثلاثة ايام من الزراعة

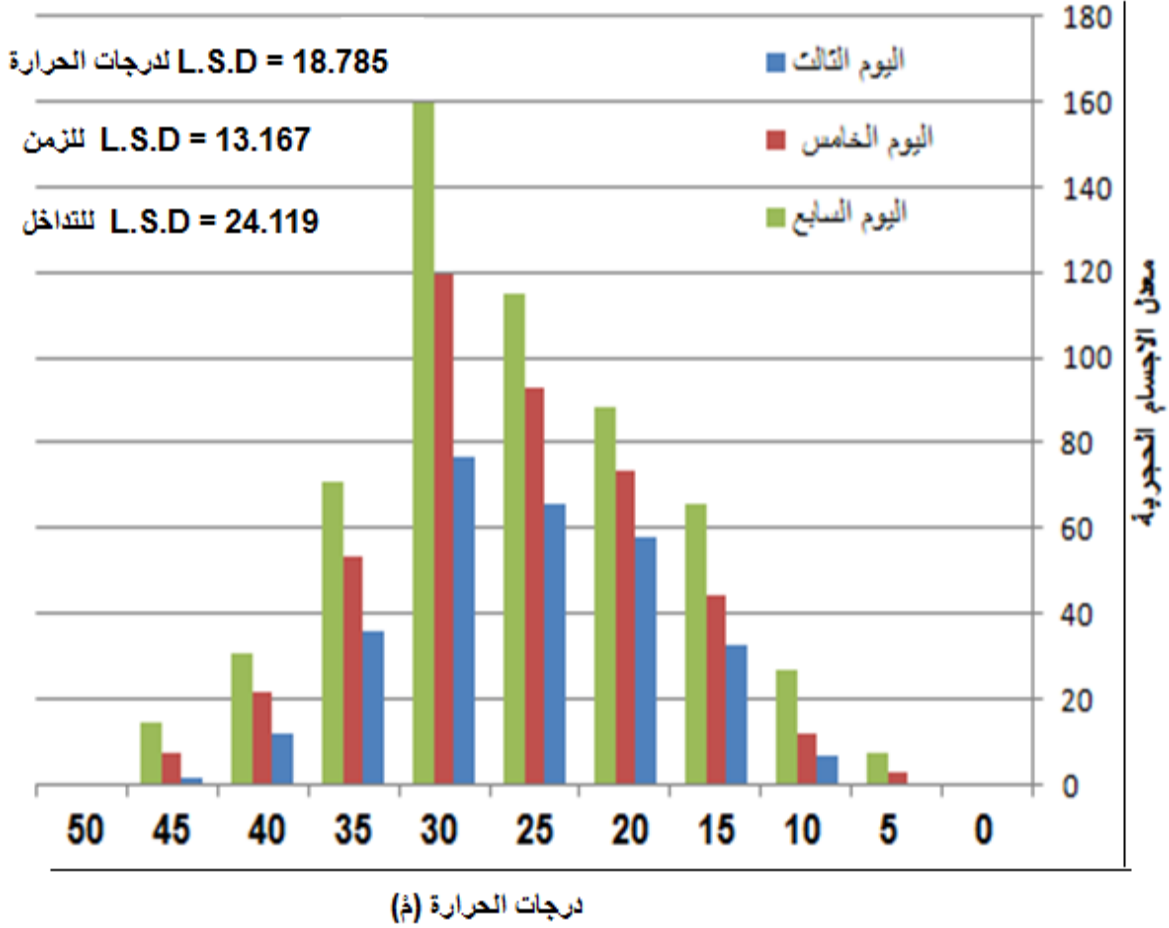
تشير نتائج الشكل (3-3) إلى أن أفضل درجة حرارة وأكثرها ملائمة لنمو الفطر *M.phaseolina* هي 30 م اذ بلغ النمو القطري للفطر عند هذه الدرجة 8.5 سم وبذلك تفوقت بفروقات معنوية على باقي درجات الحرارة , و كان اقل نمو قطري للفطر عند درجة حرارة 45 م حيث بلغ 1.25 سم في حين لم يحدث نمو في درجتي حرارة صفر و 50 م ويؤكد هذه النتائج ما ذكره كل من (Wyllie ، 1988 ، Almeida وآخرون ، 2003 ، Malvick ، 2004) حول تفضيل الفطر *M.phaseolina* درجات الحرارة 20-30 م , ان سبب زيادة نمو الفطر *M.phaseolina* في درجة الحرارة 30 م قد يعزى إلى أن الفعاليات الحيوية للنمو تصل إلى قمة نشاطها عند الدرجة الحرارية المثلى، ومن ثم يسهل لها استغلال المصادر الغذائية في الوسط لغرض بناء الجزيئات الكبيرة (Macromolecular) ومن ثم بناء كتلة الفطر. ومن أهم الفعاليات الحيوية المرتبطة بنمو الفطر التي تتأثر بتغير درجات الحرارة عملية التنفس Respiration processes إذ تنخفض عملية التنفس عند خفض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو ومن ثم تتأثر عملية بناء الجزيئات الكبيرة وهذا ما يحدث عند خفض درجة الحرارة. في حين أنه عند رفع درجة الحرارة فإن عملية التنفس سوف تتوقف وتؤدي إلى موت الفطر حتى ولو انخفضت درجة الحرارة إلى الدرجة المثلى للنمو (Maheshwari وآخرون 2000). فضلاً عن ذلك فإن فعالية إنزيمات النمو تتأثر بارتفاع درجات الحرارة إذ يحدث مسخ (denaturation) للتركيب البروتيني للإنزيم وحدوث خلل في الفعالية الإنزيمية مسبباً انخفاض النمو أو موت الفطر (السعد، 1990).



شكل (3-3) تأثير درجات الحرارة (م°) على النمو الفطري للفطر *M.phaseolina* بعد ثلاثة ايام من الزراعة في الوسط الغذائي P.D.A.

7-3 تأثير درجات الحرارة الحرارة 0-50 م° في اعداد الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* بعد 3 و 5 و 7 يوم من الزراعة على الوسط الغذائي P.D.A.

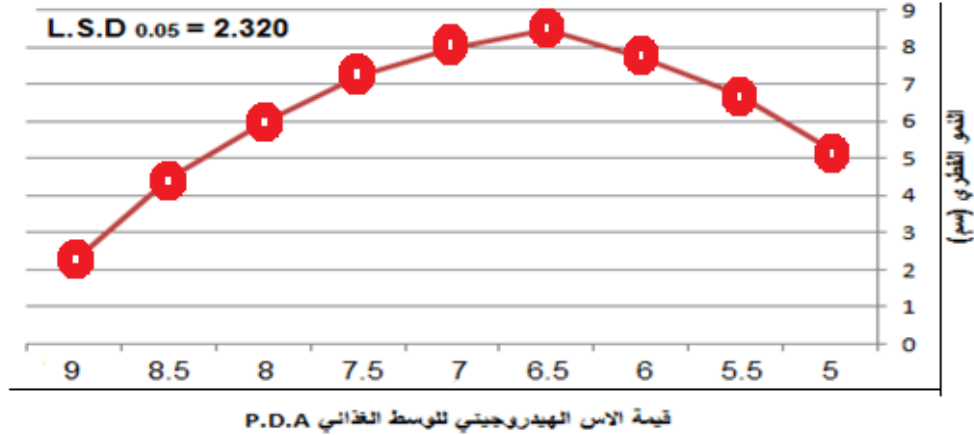
يشير الشكل (3-4) الى تأثير درجات الحرارة في تكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* بعد مرور 3 و 5 و 7 يوم من الزراعة , فقد اظهرت النتائج ان هناك فروقا معنوية في اعداد الاجسام الحجرية في الدرجات الحرارية المختلفة , فقد تبين ان افضل درجة حرارية لتكوين اكبر عدد من الاجسام الحجرية هي درجة 30م° وبذلك تفوقت بفروقات معنوية على باقي درجات الحرارة , فقد وصلت اعداد الاجسام الحجرية المتكونة عند هذه الدرجة الى 77 و 120 و 160 جسم حجري في الحقل المجري الواحد عند قوة التكبير 10 X في اليوم الثالث والخامس والسابع من النمو , وتبدأ الاجسام الحجرية بالتناقص كلما ارتفعت او انخفضت درجة الحرارة عن 30 م° , ولا تتكون الاجسام الحجرية نهائيا اذا وصلت الحرارة الى 5 م° او اذا انخفضت الى الصفر المئوية . ان هذه النتائج جاءت متفقة بعض الشيء مع ما توصل اليه الباحث Csöndes (2007) حيث وجد ان افضل درجة حرارة لنمو الغزل الفطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* هي 25-35 م° , وان اضعف نمو للغزل الفطري كان بدرجاتي 10 و 40 م° مع انخفاض كبير في تكوين الاجسام الحجرية في هاتين الدرجتين .



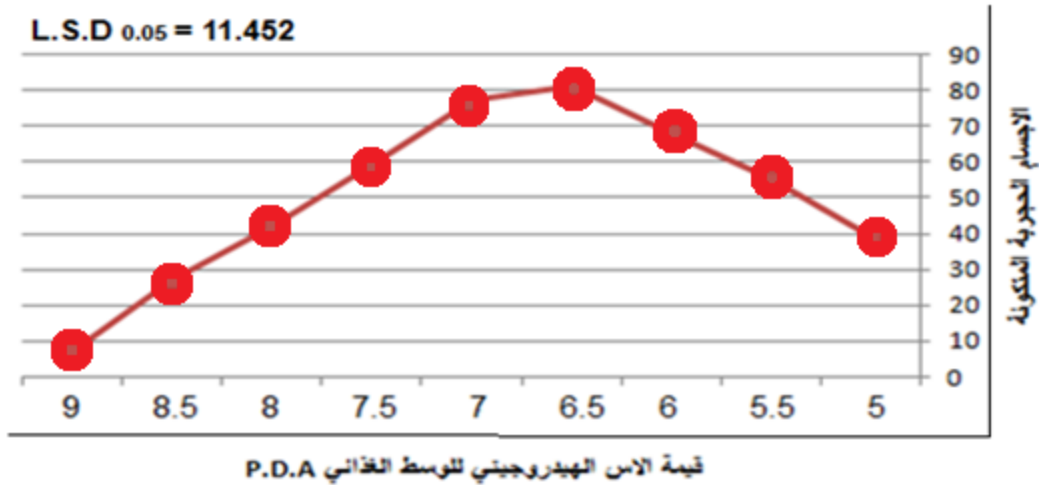
شكل (3-4) تأثير درجات الحرارة المختلفة على اعداد الاجسام الحجرية في الحقل المجهري بعد مرور 3 و 5 و 7 ايام من الزراعة في الوسط الغذائي P.D.A.

### 8-3 تأثير الأس الهيدروجيني (pH) على النمو القطري واعداد الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* بعد مرور ثلاثة ايام من الزراعة في الوسط الغذائي P.D.A. :-

تشير النتائج في الشكلين (3-5) و (3-6) الى ان افضل نمو قطري وتكوين اجسام حجرية للفطر *M.phaseolina* عندما كان الاس الهيدروجيني (PH) للوسط الغذائي P.D.A. يساوي 6.5 حيث بلغ النمو القطري 8.5 سم واعداد الاجسام الحجرية 81 جسم حجري في الحقل المجهري , وبدأ النمو القطري والاجسام الحجرية بالانخفاض كلما ارتفعت او انخفضت قيمة الاس الهيدروجيني عن 6.5 . إن تأثير الأس الهيدروجيني على فعاليات النمو للفطر تكون باتجاهات عدة فمن هذه التأثيرات قابلية الاستفادة من معدن معين ، فأيونات المعدن قد تكون معقداً او يصبح غير ذائب عند مستوى معين من الأس الهيدروجيني فأيونات المغنسيوم والفوسفات يمكن ان تظهر بصورتها الحرة عند مستوى pH منخفضة لكنها عند مستويات pH عالية تكون معقدات غير ذائبة فتقلل امكانية الاستفادة من هذه الأيونات بوساطة الفطريات ، ويكون التأثير مماثلاً مع أيونات الكالسيوم والزنك ، (Lilly و Barnett ، 1997).



شكل ( 3-5 ) تأثير قيمة الاس الهيدروجيني للوسط الغذائي P.D.A على معدل النمو القطري للفطر *M.phaseolina*



شكل ( 3-6 ) تأثير قيمة الاس الهيدروجيني للوسط الغذائي P.D.A على معدل تكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina*

9-3 تأثير الضوء والظلام على النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* بعد ثلاثة ايام من الزراعة على الوسط الغذائي P.D.A.

وجد من خلال الجدول (4-11) ان هناك فرقا معنوية واضحة في النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* عند الحضان في ظروف اضاءة و ظلام وتناوب بين الاضاءة مع الظلام مع ثبات درجة الحرارة والعوامل الاخرى , فقد تفوقت ظروف الظلام في النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية لتصل الى 8.5 سم و 91.6 جسم حجري على التوالي , ان تأثير الضوء على نمو وتكاثر الفطريات له تفسيرات عديدة فقد يكون له التأثير سلبي على نمو وتكاثر الفطريات كما حصل مع الفطر *M.phaseolina* او انه يشجع الفطر على تكوين الغزل الفطري في البيئة النامية عليها ومثال ذلك الفطر *Helminthosporium gramineum* , وكما وجد ان لفتهر الاضاءة تأثيراً في تجرثم الفطر *Phytophthora drechleri* حيث يكون الفطر الابواغ البيضية oospore في الظلام ويكون عددها قليل جدا في الضوء , 1970 (klisiewicz) .

جدول (3-4) تأثير الضوء والظلام على النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* بعد ثلاثة ايام من الزراعة على الوسط الغذائي P.D.A :-

المعاملة	النمو القطري (سم)	عدد الاجسام الحجرية
الضوء	2.25	29.5
الظلام	8.5	91.6
تناوب الضوء مع الظلام	7.75	70.3
L.S.D	3.205	10.954



صورة (3-3) تأثير الضوء والظلام وتناوبهما على النمو القطري وتكوين الاجسام الحجرية للفطر *M.phaseolina* المصادر

- السعد، مها رؤوف (1990). مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. جامعة بغداد. الطبعة الثانية. صفحہ 75.

- مطلوب ، عدنان ناصر وعزالدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول .1989. انتاج الخضراوات ج2 . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل.
- بنیان , لیلی عبد الرحيم (2007) تأثير بعض العوامل البيئية في إصابة نبات زهرة الشمس بالفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid و استخدام بعض العوامل الاحيائية في المكافحة. اطروحة دكتوراه , كلية الزراعة - جامعة البصرة .

- **Anonymous . 1977 .** Nutritive value of food . United States Dept. Agr., Bu. No 72 .
- **Fakir, G.A. and Mridha, A.U. 1985.** Die-back caused by *Collectotrichum dematium* and *Macrophomina phaseolina* a new disease of lady's finger (*Hibiscus esculantus* L.) Bangladesh J. Pl. Pathol., 1:25-28.
- **Fakir, G.A. 2000 .** An annotated list of seed-borne diseases in Bagladesh . Seed pathology laboratory. Dept. Pl. Pathol., Bagladesh Agriculture University, Mymensingh Bagladesh.
- **Almeida, A. M. R., Amorim., L., Filho, A. B., Jorres, E., Farias, J. R., Benato, L. C., Pinto, M. C., Pinto, M. C. and Valentin, N. (2003).** Progress of soybean charcoal rot under tillage and no tillage system in Brazil. Fito pathologia bra. Vol. 28 (2) : 115 – 122.
- **Pearson, C. A. S., Leslie, J. F. and Schwenk, F. W. 1986.** Variable chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina* from corn, soybean, and soil. Phytopathology 76: 646–649.
- **Sinclair JB, 1982.** Compendium of Soybean disease. 2nd Ed. by American Phytopathology Society, St. Paul, Minnesota, USA
- **Aghighi, S., Shahidi–Bongjar, G. H., Rawashdeh, R., Batayneh, S. and Saadoun, I. (2004).** First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against *Alternaria* strains, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian Journal of Plant Sciences 3 (4) : 463 – 471.
- **Purkayastha, S., Kaur, B., Dilbaghi, N. and Chaudhury, A. 2004.** Cultural and pathogenic variation in the charcoal rot pathogen from clusterbean. Ann. Agri. Biol. Res. 9: 217–221.
- **Mihail, J. D. 1992.** *Macrophomina*. Pp 134-136 in: Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. L. L. Singleton, J. D. Mihail, and C. M. Rush, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- **Wrather, J., A., Anderson, T, R., Arsyad, D. M., Gai, J., Ploper, L. D., Porta-Puglia, A., Ram, H. H. and Yorinori, J. T. 1997.** Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. Plant Dis. 81: 107–110.
- **Wang, H. and Jones, R. W. (1993).** A second endogluconase cloned from *Macrophomina phaseolina*. Phytophology, 83: 1463 – 1465.

- **Martin, S. B., Abawi, G. S. and Hoch, H. C. 1985.** Biological control of soilborne pathogens with antagonists. (C.F) In: Biological control in Agricultural IPM systems, 433-454 pp.
- **Hasan, H. A. H. (1998).** Studies on toxigenic fungi in roasted food stuff (Salted seed) and halotolerant activity of emodin producing *Aspergillus wentii*. Folia. Microbiol. 43: 383–391.
- **Wyllie, T.D. 1989.** charcoal rot pages 30-33 in Compendium of soybean Disease 3 rd ed J.B. Sinclair and P.A. Backman eds American phytopathological young. P.A. 1949. Charcoal rot of plants in east Texas Agric. Exp. stn. Bull 712: 1033 College Station.
- **Malvick, D. (2004).** Interaction between weather and crop disease. Crop Sciences, Univ. Illinois, 1–8.
- **Maheshwari, R.; Bharadwaj, G. and Bhat, M. (2000).** Thermophilic Fungi; their physiology and enzymes. Microbiology and Molecular Biology Review. 63: 461-488.
- **Lilly, V. and Barnett, H. 1997.** The influence of pH and certain growth factors on mycelia growth and perithecial formation by *Sordaria fimicola*. Am.J.Botany, 34:131-138.
- **Klisiewicz, J.M. 1970.** Factors affecting production and germination of oospore of *Phytophthora drechsleri*. Phytopathology .60:1738- 1742 .

Physiological studies on *Macrophomin phaseolina* (tassi) Goid isolates from different Hosts and their pathogenicity for Okra seedling

Ahmad Mohammad Hussain

Prof. Dr. Majeed M. Dewan

University of Kufa /College of Agriculture

### Abstract

The results showed that the *Macrophomin phaseolina* (tassi) Goid fungus was isolated from Okra , Sun flower , Cowpea , Sesame , Melon , Potato , Dedonia and Oleander plants . The isolates of *M. phaseolina* gave different morphological characters like the mycelia growth and sclerotial formation , The diameter growth of okra2 isolates was 8.5 cm in the third day from the inoculation at  $27 \pm 2$  c .It was found the sunflower 2 isolate of *M. phaseolina* produced a highest number of sclerotia on P.D.A. . The sclerotia numbers to above isolate were 100 , 188 and 244 sclerotia in third , forth and fifth day respectively . The isolates of *M. phaseolina* differed in the pathogenicity on the germination of Okra seeds . It was found the Okar2 isolate gave a high effect on planting pathogenicity while the lowest was by the oleander isolate.The antagonism of Al-Tahadi and Astarallan isolates of *T.harzianum* and *Emericella nidulans* against *M. phaseolina* showed different level of antagonisms. The antagonism distance of Al-Tahadi , Astarallan isolates and *E.nidulans* were 1.8 , 2.3 and 2.2 cm . The Astarallan isolate of *T.harzianum* gave a high ability to cover all the *M. phaseolina* colony by the parasitism on the pathogenic fungus .The best diameter growth and sclerotia formation were in 30 c while the growth and sclerotia formation were stopped in 0 and 50C . The study proved that the best diameter growth of *M. phaseolina* was in distilled water( 8.5 cm) and the best sclerotia formation was in level 10 ds . The best PH was 6.5 to produce best growth and number of sclerotia .The growth and sclerotia formation were increased in dark condition to reach 8.5 cm and 91.6 sclerotia respectively while

the alternate dark and light condition gave 7.75 cm , 70 sclerotia respectively whereas the continuous light treatment gave 2.25 cm , 29.5 sclerotia respectively.

.