تأثير بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مكافحة التعفن الرمادي *Botrytis cinerea* على ثمار البندورة/الطماطم والفريز/الفراولة تحت ظروف المختبر والدفيئة

عمر حمودي

مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، بوقا، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: ohammoudi70@yahoo.com

الملخص

حمودي، عمر. 2014. تأثير بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مكافحة التعفن الرمادي *Botrytis cinerea* على ثمار البندورة/الطماطم والفريز/الفراولة تحت ظروف المختبر والدفيئة. مجلة وقاية النبات العربية، 32(1): 64-71.

يهدف البحث إلى تقدير إمكانية مكافحة العفن الرمادي على الفريز/الفراولة والبندورة/الطماطم باستخدام الأحياء المضادة، حيث أجري البحث في مختبرات مركز بحوث اللاذقية والدفيئات البلاستيكية في محطة الصنوبر. لتأكيد فعالية هذه الأحياء المضادة التي تم اختبارها مخبرياً على ثمار الفريز/الفراولة. خفضت الأحياء المضادة *Trichoderma hamatum* T382 و*Pseudomonas chlororaphis* MA342 نسبة الإصابة إلى10% و15%، على التوالي مقارنة بالشاهد (100%)، بينما لم تحدث إصابة للثمار عند معاملتها بالمبيد الفطري كلوروثالونيل (Bravo). كذلك خفضت الأحياء المختبرة شدة الإصابة على مقياس 0-3 إلى ما دون 1.5 مقارنة بالشاهد (2.6). أظهرت النتائج تفوق معاملة المبيد (100%) تلتها المعاملة بالفطر *T. hamatum* T382 (91.52%) والمعاملة بالبكتيريا *P. chlororaphis* MA342 (83.03%) مقارنة مع معاملة الشاهد (0%). تم اختبار سلسلة من تراكيز الأحياء المضادة التي أثبتت فعاليتها في منع نمو العفن الرمادي. أظهرت النتائج فعالية معنوية عند تطبيق التراكيز الأعلى من 10^8 خلية بكتيرية/مل من العزلتين البكتيريتين *P. chlororaphis* و*Serratia plymuthica* (52-86%)؛ بينما أعطى تطبيق التراكيز الأعلى من العزلات الفطرية 10^5 بوغة/مل فعالية معنوية (52-76%) مقارنة مع الشاهد(0%). وعند تطبيق هذه الأحياء المضادة على نباتات البندورة/الطماطم في الدفيئة البلاستيكية، أظهرت النتائج فعالية معنوية لكافة العزلات المختبرة مقارنة مع الشاهد غير المعامل وبنسبة 53-74%.

كلمات مفتاحية: *Botrytis cinerea*، الأحياء المضادة، مكافحة أحيائية، العفن الرمادي، بندورة/طماطم، فريز/فراولة.

المقدمة

تعتبر المسببات الفطرية المشكلة الأساسية في المحاصيل الزراعية في العالم، ومن المحتمل أن يعتبر المسبب المرضي للعفن الرمادي *Botrytis cinerea* من أهم المسببات المرضية الأكثر انتشاراً في العالم الذي يصيب المجموع الخضري والثمار وبالتالي يسبب خسارة اقتصادية كبيرة. يصيب هذا المسبب المرضي العديد من المحاصيل الزراعية منها الفريز/الفراولة، البندورة/الطماطم، الحمص، الخيار، الخس، الكرمة ونباتات الزينة، وغيرها.

نظراً للآثار السلبية التي خلفها الاستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية، ومنها ظهور خطر المقاومة للمبيدات نتيجة التغيرات الوراثية التي تحدث للمسببات المرضية ضدها وبالتالي زيادة حدوث الأضرار والخسائر الاقتصادية (30)، فقد بذلت جهود حثيثة لخفض استخدام المبيدات الكيميائية والدعوة لتبني نظم المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية، والتي تعد المكافحة الأحيائية أحد أهم مرتكزاتها الأساسية. إذ شهد القرن الماضي ظهور مبيدات أحيائية مادتها الفعالة أحياء مجهرية من فطور وبكتريا لتحل، كلما كان ذلك ممكناً، محل المبيدات الكيميائية (1، 14).

وعليه كان لا بد من وضع إستراتيجية جديدة لمكافحة هذا المرض من خلال المكافحة الأحيائية باستخدام الأحياء المضادة (البكتيرية والفطرية)، حيث عُرفت البكتريا المفيدة الموجودة على الجذور كعامل يساعد على تنشيط النمو النباتي (21)، من خلال إفراز الهرمونات النباتية و تامين العناصر الغذائية. كما تعمل البكتيريا على إفراز الصادات الحيوية التي تعمل على كبح نمو المسبب المرضي ومنافسته على المكان والغذاء، كما تعمل هذه الكائنات على قتل المسببات المرضية من خلال إفراز الأنزيمات الحالّة لجدر خلايا المسبب المرضي مثل كيتيناز، 3،1 بتا غلوكوناز (3، 6، 12)، كما تم تسجيل العزلة البكتيرية *Serratia plymuthica* في مكافحة العفن الرمادي على نباتات الخيار وعلى البندورة/الطماطم والفاصولياء من خلال إفراز أنزيم الكيتيناز (19، 31)، كذلك تستطيع الصادات

الحيوية العمل على تحفيز نظام المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR) كما تعمل البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* (wcs417) والفطر *Trichoderma asperellum* T34 على تحفيز المقاومة (ISR) من خلال تحفيز النبات على إفراز الايتيلين و حمض الجاسمونيك اللذين يلعبان الدور الأكبر في تحفيز المقاومة لدى النبات (27)، كما تعمل على تغيير التوازن الميكروبي في منطقة جو الجذور لمصلحة الميكروبات المفيدة (23، 26).

تم تصنيف وتعريف العديد من الأحياء المضادة والتي يمكن أن تؤثر في المسبب المرضي *B. cinerea* (7). من هذه الأجناس الفطرية ككائن حيوي مضاد .*Trichoderma* spp و *Gliocladium* .spp. ينتشر جنس *Trichoderma* على نطاق واسع عالمياً ويوجد بصورة عامة في التربة وعلى بعض المواد العضوية، كما وجد أيضا على سطح جذور نباتات مختلفة وبالتالي فإن لهذا الجنس المقدرة على العيش في مدى واسع من الظروف والمواد.

يعد استخدام عزلات من الفطر .*Trichoderma* spp ذات قدرة تضادية عالية ومتحملة للظروف البيئية الحقلية من أهم مستلزمات نجاح المكافحة الأحيائية (14). فقد وجِدَ سابقاً أن أعلى نشاط تضادي للفطر *T. harzianum* (Rafi) كان من مستعمرة عمرها سبعة أيام (5). كما وجد أن غاز أول أكسيد الكربون والايتانول هما من بين الغازات التي تنتجها سلالات الفطر *T. harzianum* التي تعمل على تثبيط نمو الفطور في المختبر (17، 16).

تفيد الخصائص التي تمتلكها أنواع .*Trichoderma* spp لإمكانية تصنيعها وتحضيرها وتطبيقها في المكافحة (11)، حيث تم الحصول على نتائج مبشرة بـ *T. harzianum* لمكافحة الإصابة على المجموع الخضري على الخيار (10) وعلى البندورة/الطماطم (8) تحت ظروف الدفيئات الزجاجية في فلسطين المحتلة وكذلك على التفاح (29) وعلى العنب في فلسطين المحتلة (9) تحت الظروف الحقلية. خفضت العزلة *T. harzianum* Jn14 مرض العفن الرمادي بنسبة 77% عندما طبقت على شكل معلق بوغي على نباتات البندورة/الطماطم (2). ان تطبيق .*Trichoderma* spp و .*Gliocladium* spp كعوامل مكافحة أحيائية للإصابة بالعفن الرمادي وكذلك تبوغه على البندورة/الطماطم (15).

كذلك خفض *G. roseum* الإصابة بالعفن الرمادي على بادرات الكرنب تحت ظروف الدفيئات الزجاجية (32) وعلى الفريز داخل الدفيئات الزجاجية و التجارب الحقلية (28)، كما تستطيع هذه الأحياء المضادة مثل *T. harzianum* T39 تخفيض القدرة الامراضية للمسبب المرضي للعفن الرمادي من خلال إيقاف المفرزات من المسبب المرضي التي يتطفل من خلالها على النبات (20).

يهدف البحث الحالي إلى معرفة إمكانية مكافحة العفن الرمادي باستخدام الفطور والبكتريا كعوامل للمكافحة الأحيائية *in-vivo* على أوساط طبيعية على ثمار الفريز/الفراولة في المختبر وكذلك على نباتات البندورة/الطماطم في الدفيئة البلاستيكية.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية

قطفت ثمار الفريز/الفراولة من نباتات سليمة مزروعة في دفيئة بلاستيكية غير معاملة بالمبيدات الفطرية وطهرت سطحياً بمحلول من هيبوكلوريت الصوديوم تركيزه 3% لمدة خمسة دقائق، ثم غسلت بالماء المعقم لمدة خمسة دقائق أيضاً، وكررت العملية ثلاث مرات من ثم وضعت في وعاء نظيف ومعقم للاستخدام.

المسبب المرضي *Botrytis cinerea*

عزل المسبب المرضي للعفن الرمادي *B. cinerea* من نباتات بندورة/طماطم مزروعة في دفيئات بلاستيكية في المنطقة المحيطة بمحطة البحوث العلمية الزراعية في الصنوبر في محافظة اللاذقية. تتلخص طريقة العزل بأخذ جزء من ميسيليوم من مستعمرة للفطر نامية على ساق نبات البندورة /الطماطم المصاب وزرعت في أطباق بتري قطر 9 سم مجهزة بالوسط الغذائي (أجار- ديكستروز- مستخلص البطاطا/البطاطس) (PDA) بنسبة 16غ- 10غ- 200 مل/ليتر ماء، ومن ثم أغلقت الأطباق بالبارافيلم، حضنت الأطباق عند 23±2 °س لمدة 3-5 أيام للحصول على نمو جيد للفطر. تمت تنقية الفطر بنقل جزء من حافة النمو الفطري الخارجي للمستعمرة إلى طبق (PDA) آخر وحضنت لمدة 3-5 أيام ومن ثم حفظت عند 4 °س لحين الاستخدام.

لتحضير المعلق البوغي، جمعت الأبواغ بواسطة ماء معقم من سطح مستعمرة *B. cinerea* بعمر 14 يوماً ثم صفيت بوسطة طبقات من الشاش المعقم لإزالة قطع الميسيليوم، وضبط تركيز المعلق بوساطة شريحة ميللميترية Thoma–Kammer (Marienfeld, Germany) إلى التراكيز 10^6 و10^5 بوغة/مل بإضافة ماء معقم من أجل إعداء ثمار الفريز/الفراولة ونباتات البندورة /الطماطم في الدفيئة البلاستيكية.

عوامل المكافحة الأحيائية

استخدمت في هذه الدراسة عزلات مختلفة من البكتيريا والفطور كما في الجدول 1.

جدول 1. الأحياء المضادة ومصدر الحصول عليها.

Table 1. Antagonistic microorganisms and its sources.

الأحياء المضادة **Antagonistic microorganisms**	**Source** المصدر
Serratia plymuthica HOR- C48	Prof. Gabriele Berg, University of Graz, Austria
Bacillus subtilis B2g	Institute of microbiology, University of Rostock Germany
Pseudomonas chlororaphis MA342	Dr. M. Hökeberg, Bioagri, Upsalla, Sweden
Gliocladium catenulatum J1446	Dr. Kemira Agro Oy,Verdera Oy, Finland
Trichoderma harzianum (T2, T3, T5)	University of Ghent, Belgium
T. hamatum T382	University of Ghent, Belgium
T. asperellum T34	University of Ghent, Belgium

تنمية الأحياء المضادة المستخدمة

نُميت البكتريا في دورق مخروطي سعة 250 مل يحتوي على 50 مل بيئة سائلة من TSB (30 g l^{-1}tryptic soy broth) ووضعت الدوارق (bioMérieux, Germany GmbH, Nürtingen) على هزاز 180 دورة/ دقيقة عند 25±2°س لمدة 24 ساعة. تم أخذ 2 مل من البيئة السابقة ولقح بها 200 مل بيئة سائلة من TSB ووضعت بالشروط السابقة نفسها وتركت لحين الاستخدام.

أما بالنسبة للأحياء المضادة الفطرية *Gliocladium catenulatum* و.*Trichoderma* spp فتم تنميتها على وسط PDA في الشروط السابقة نفسها. جمعت الابواغ بوساطة ماء معقم من سطح مستعمرة للكائن الحي المضاد بعمر 14 يوماً ثمُ صفيت بواسطة طبقات من الشاش المعقم لإزالة قطع الميسيليوم، وضبط تركيز المحلول باستخدام شريحة ميلليمترية Thoma–Kammer (Marienfeld, Germany) إلى التراكيز المطلوبة من أجل المعاملة.

اختبار فعالية الكائنات الحية المفيدة ضد الإصابة بالعفن الرمادي على ثمار الفريز/الفراولة

لتأكيد فعالية الأحياء المضادة التي أعطتها اختبارات Biotest I,II (بيانات غير منشورة)، حيث تعتمد هذه الاختبارات على فعالية هذه الأحياء بالتماس المباشر مع المسبب المرضي كما في Biotest I وتماس غير مباشر عن طريق تأثير المفرزات من الأحياء المضادة على المسبب المرضي كما في Biotest II بعد تمريرها ضمن فلتر جرثومي، تم اختبارها على نباتات البندورة/الطماطم مباشرة (*ad planta*) أو على ثمار الفريز/الفراولة. قومت شدة الإصابة حسب مقياس ثلاثي (0–4)، حيث أن: 0= لا توجد إصابة على الثمار؛ 1= أقل من 25% من الثمرة مصاب بالعفن؛ 2= بين 25–50% من الثمرة مصاب بالعفن؛ 3= أكثر من 50% من الثمرة مصاب بالعفن (الثمرة تالفة)، ثم حسبت الفعالية بعد ثمانية أيام من المعاملة (جدول 2) وفق المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية} = \frac{\text{شدة الإصابة بالشاهد- شدة الإصابة بالمعاملة}}{\text{شدة المعاملة بالشاهد}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج مع العزلات *T. hamatum* T382 و *P. chlororaphis* 2 MA34 تخفيض نسبة الإصابة إلى 10% و15%، على التوالي، مقارنة بالشاهد (100%)، بينما لم تسجل إصابة على الثمار عند رش المبيد الفطري كلوروثالونيل، كذلك خفضت الأحياء المضادة المختبرة شدة الإصابة على مقياس 0–3 إلى ما دون 1.5 مقارنة بالشاهد (2.6).

أما بالنسبة لمقياس الفعالية فقد أظهرت هذه الأحياء المضادة تفوق المبيد كلوروثالونيل 100% ثم الفطر *T. hamatum* T382 (91.52%) و*P. chlororaphis* MA342 (83.03%) بالمقارنة مع الشاهد (0%) (جدول 2). تم استخدام فاصل زمني بين رش الأحياء المضادة و العدوى بالمسبب المرضي لكي تستطيع هذه الكائنات من الانتشار والنمو على النبات، حيث تستطيع هذه الكائنات من خلال الفترة الزمنية أن تستوطن على النبات ويتطلب ذلك توافر الظروف المثالية لتستطيع التعبير عن تأثيرها ضد المسبب المرضي، وأيضاً هذا الفاصل الزمني يفسح المجال لتوليد المقاومة لدى النبات، حيث وجد سابقاً (13) أن فترة يومين إلى أسبوع ضرورية من أجل فعالية هذه الأحياء المضادة كذلك تحتاج البكتريا *P. fluorescens* WCS374 إلى يوم على الأقل لتحفيز المقاومة لدى النبات ضد مرض الذبول الفيوزاريومي (24).

جدول 2. شدة الإصابة بالعفن الرمادي *B. cinerea* بعد ثمانية أيام من معاملة ثمار الفريز/فراولة صنف Camarosa بالأحياء المضادة وفعاليتها في الحاضنة عند حرارة 19±1° س ورطوبة نسبية 90±5%، حيث تمت العدوى بالعفن بعد يومين من المعاملة بالأحياء المضادة.

Table 2. Efficacy of antagonistic microorganisms on the gray mold disease severity on strawberry (variety Camarosa) fruits eight days after treatment under controlled conditions (temperature 19±1°C, relative humidity 90±5%). *B. cinerea* was inoculated two days after treatment with antagonistic microorganisms.

الفعالية% Efficacy%	شدة الإصابة (0-3) Disease severity (0-3)	نسبة الإصابة (%) Incidence(%)	الأحياء المضادة Antagonistic microorganisms
65.76 bc	0.9 bc	35	*Serratia plymuthica* HOR- C48
52.88 bc	1.25 bc	60	*Bacillus subtilis* B2g
83.03 bc	0.40 bc	15	*Pseudomonas chlororaphis MA342*
69.55 bc	0.75 bc	25	*Gliocladium catenulatum* J1446
47.73 c	1.35 c	50	*Trichoderma harzianum* T2
76.52 bc	0.65 bc	30	*Trichoderma harzianum* T3
57.73 bc	1.05 bc	40	*Trichoderma harzianum* T5
64.70 bc	1.00 bc	40	*Trichoderma asperellum* T34
91.52 b	0.20 b	10	*Trichoderma hamatum* T382
100.00 b	0.00 b	0	كلوروثالونيل (Bravo)
0.00 a	2.60 a	100	Control شاهد

القيم المتبوعة بنفس الأحرف في نفس العامود لا يوجد بينها فروق معنوية بالاعتماد على اختبار توكي HSD عند مستوى إحتمال 0.05.
Mean values followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Tukey HSD test at P=0.05.

اختبار تأثير تراكيز مختلفة من الأحياء المضادة ضد الإصابة بالعفن الرمادي في الحاضنة

تم اختبار تأثير تراكيز مختلفة من الأحياء المضادة ضد الإصابة بالعفن الرمادي على ثمار الفريز/الفراولة صنف Camarosa من 10^{10} الى 10^7 خلية بكتيرية/مل بالنسبة للأحياء المضادة البكتيرية ومن 10^7 إلى 10^4 بوغة/مل بالنسبة للكائنات الفطرية المفيدة تحت الشروط نفسها. في الواقع تم اختيار الأحياء المضادة التي أثبتت فعاليتها في التجارب السابقة فقط العزلات *T. hamatum* T382، *T. harzianum* T3، *G. catenulatum* J1446، *P. chlororaphis* MA342 و *S. plymuthica* HOR-C48، حيث كانت الأحياء المضادة البكتيرية أعلى تأثيرا عند تركيز 10^{10} و10^9، أدت إلى تخفيض شدة الإصابة وبفروق معنوية على مقياس شدة الإصابة 0–3 إلى ما دون 1.4 مقارنة بالشاهد (3.0) ومن ثم تناقص التأثير مع تناقص كثافة البكتريا حتى 10^7 خلية بكتيرية/مل حيث لا توجد فروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد، بينما خفض المبيد كلوروثالونيل شدة الإصابة وبفروق معنوية إلى ما دون 0.5 مقارنة بالشاهد (3.0)، ولا توجد فروق معنوية بين التراكيز العليا من الأحياء المضادة (جدول 3).

أظهرت هذه الأحياء المضادة *P. chlororaphis* أكثر فعالية عند التركيز 10^{10} والمبيد كلوروثالونيل (Bravo) بنسبة 85.71% ثم التركيز 10^9 بفعالية (71.43%)، بينما أظهرت التراكيز الأدنى أقل فعالية (أقل من 50%)، أما عند استخدام *S. plymuthica* فقد أعطت التراكيز 10^{10} و10^9 فعالية أعلى من 50% مقارنة مع الشاهد (0%) (جدول 3).

كانت الأحياء المضادة الفطرية أعلى تأثيراً عند تركيز 10^7 و10^6، أدت إلى تخفيض شدة الإصابة وبفروق معنوية إلى ما دون 1.4 مقارنة بالشاهد (3.0)، ومن ثم تناقص التأثير مع تناقص كثافة أبواغ الفطور المضادة حتى 10^4 بوغة/مل حيث لا توجد فروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد، بينما خفض المبيد كلوروثالونيل *شدة* الإصابة وبفروق معنوية إلى ما دون 0.5، بينما لم تكن هناك فروق معنوية بين التراكيز العليا من الأحياء المضادة، كما هو موضح في جدول 3.

أما بالنسبة لتقويم الفعالية عند الأحياء المضادة الفطرية المختارة *T. hamatum* T382، *T. harzianum* T3 و *G. catenulatum* J1446، أظهرت النتائج بوضوح فعالية هذه الأحياء عند تركيز 10^7 و10^6 في منع وحدوث الإصابة بالعفن الرمادي (52.4–76.2%)، بينما لم تظهر أية فعالية واضحة عند التراكيز اقل من 10^6 وبفعالية (14.3–42.9%) مقارنة مع الشاهد (0%)، في حين أعطت معاملة المبيد الفطري كلوروثالونيل فعالية واضحة وايجابية (85.71%) مقارنة مع الشاهد (0%) (جدول 3). أشارت أبحاث سابقة على فعالية كل من *Gliocladium* spp. و *T. hamatum* spp. من خلال مفرزاتها، حيث خفضت الإصابة بالعفن الرمادي على قرون وأزهار الفول

بنسبة 77-97% (25)، كما تمكنت هذه الأحياء المضادة (*T. harzianum* T39) التي أشارت إلى تخفيض القدرة الإمراضية للمسبب المرضي للعفن الرمادي من خلال إيقاف المفرزات من المسبب المرضي التي يتطفل من خلالها على النبات (20). تتوافق تلك النتائج مع دراسات سابقة (18) أن معاملة بذور الشوندر السكري بالبكتريا *P. putida* بتركيز $5x10^7$ خلية بكتيرية/ بذرة خفضت الإصابة بالمسبب المرضي *Pythium ultimum* بنسبة 40- 53% اقل من التركيز $2x10^8$ خلية /بذرة، كذلك أكد Larena وآخرون (22) أنه من الضروري معاملة التربة قبل الزراعة بالكائن المفيد *Penicillium oxalicum* بتركيز ما بين 10^6–10^7 بوغة/غرام تربة ليكون فعالاً ضد *Fusarium* و *Verticillium* على نبات البندورة. هناك دراسات مشابهة على نبات الحمص ضد العفن الرمادي حيث أكد Burgess وآخرون (4) عند استخدام تركيز 10^7–10^8 بوغة/مل من الفطر *G. roseum* أدت إلى خفض المرض في حدود 59-69%، على التوالي.

لكن أوضحت النتائج أن استخدام المكافحة الحيوية ليس دائما فعالاً ضد العفن الرمادي، حيث يعتمد على الظروف الطبيعية من أجل تطور مثالي لتلك الكائنات وأن هذه الظروف ليست دائما ملائمة كفاية للإصابة بالعفن الرمادي أو نشاط الكائن المضاد الموجودين في الهواء أو في التربة (11).

جدول 3. شدة الإصابة بالعفن الرمادي *B .cinerea* بعد ثمانية أيام من معاملة ثمار الفريز/الفراولة (صنف Camarosa) بتراكيز مختلفة من الأحياء المضادة وفعاليتها في الحاضنة، حيث تمت العدوى بالعفن بعد يومين من المعاملة بالأحياء المضادة.

Table 3. Efficacy of different concentrations of antagonistic microorganisms on strawberry (cv. Camarosa) gray mold disease severity eight days after treatment under controlled conditions. *B. cinerea* was inoculated two days after fruits treatment with antagonistic microorganisms.

الفعالية% **Efficacy%**	شدة الإصابة (0-3) **Disease severity(0-3)**	التركيز **Concentration**	الأحياء المضادة **Antagonistic microorganisms**
71.43 bc	0.86 bc	10^{10}	*Serratia plymuthica* HOR- C48
52.38 bc	1.43 bc	10^9	
33.33 ac	2.00 ac	10^8	
9.52 a	2.71 a	10^7	
85.71 b	0.43 b	10^{10}	*Pseudomonas chlororaphis MA342*
71.43 b	0.86 b	10^9	
42.86 ab	1.71 ab	10^8	
19.05 a	2.43 a	10^7	
61.90 bc	1.14 bc	10^7	*Gliocladium catenulatum* J1446
52.38 bc	1.43 bc	10^6	
33.33 ac	2.00 ac	10^5	
23.81 ac	2.29 ac	10^4	
76.19 bc	0.71 bc	10^7	*Trichoderma harzianum* T3
57.14 ab	1.29 ab	10^6	
42.86 ac	1.71 ac	10^5	
14.29 a	2.57 a	10^4	
76.19 b	0.71 b	10^7	*Trichoderma hamatum* T382
66.67 bc	1.00 bc	10^6	
33.33 ac	2.00 ac	10^5	
33.33 ac	2.00 ac	10^4	
85.71b	0.43 b	-	كلوروثالونيل (Bravo)
0.00	3.00 a	-	شاهد Control

القيم المتبوعة بأحرف متماثلة في العامود نفسه لا يوجد بينها فروق معنوية بالاعتماد على اختبار توكي HSD عند مستوى إحتمال 0.05.

Mean values followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Tukey HSD test at P=0.05.

اختبار تأثير الأحياء المضادة ضد الإصابة بالعفن الرمادي في الدفيئة البلاستيكية

أظهرت النتائج لدى تطبيق هذه الأحياء المضادة رشاً على نباتات البندورة/الطماطم صنف نايا في الدفيئة البلاستيكية خلال موسم 2009-2010 بتركيز $2x10^9$ خلية/مل (بكتيرية) وبتركيز 10^7 بوغة/مل (كائنات فطرية) في منع نمو العفن الرمادي وتفوق الأحياء *T. hamatum* T382، *G. catenulatum*، *P. chlororaphis* و*S. plymuthica*، حيث خفضت عدد البؤر على النبات الواحد كمقياس لشدة الإصابة إلى أقل من 1 بؤرة/نبات، بينما أدت الكائنات الأخرى المختبرة إلى 1.1-1.7 بؤرة/نبات، في حين خفض المبيد كلوروثالونيل عدد البؤر إلى 1.05 بؤرة/نبات مقارنة بالشاهد (3.48 بؤرة/نبات)، وبالتالي أظهرت كل المعاملات تخفيضاً معنوياً لعدد البؤر بالنبات مقارنة بالشاهد ولكن لم يكن هناك فروق معنوية بين الأحياء المختبرة نفسها (جدول 4).

أما فعالية هذه الأحياء فتراوحت بين 51.1% للعزلة *T. asperellum* T34 إلى 74.1%عند العزلة T382 *T. hamatum*، حيث تفوقت بعض الأحياء المضادة المختبرة على الشاهد كلوروثالونيل والمستخدم كمبيد فعال ضد العفن الرمادي والذي أعطى فعالية 69.8% مقارنة مع الشاهد (0%) (جدول 4).

جدول 4. شدة الإصابة بالعفن الرمادي *B. cinerea* (عدد البؤر/نبات) بعد 25 يوم من معاملة نباتات البندورة/الطماطم (صنف نايا) بالأحياء المضادة وفعاليتها في ظروف الدفيئة البلاستيكية، حيث تمت العدوى بالعفن بعد يومين من المعاملة بالأحياء المضادة

Table 4. Efficacy of antagonistic microorganisms against gray mold disease caused by *B. cinerea* on tomato plants (cv. Naya) 25 days after inoculation under greenhouse conditions. *B. cinerea* was inoculated two days after treatment with antagonistic microorganisms.

الفعالية% Efficacy%	شدة الإصابة (عدد البؤر/نبات) Disease severity (No of infected area/plant)	الأحياء المضادة Antagonistic microorganisms
73.38 b	0.93 b	*Serratia plymuthica* HOR- C48
66.91 b	1.15 b	*Bacillus subtilis* B2g
73.38 b	0.93 b	*Pseudomonas chlororaphis MA342*
72.66 b	0.95 b	*Gliocladium catenulatum* J1446
68.35 b	1.10 b	*Trichoderma harzianum* T2
66.19 b	1.18 b	*Trichoderma harzianum* T3
53.24 b	1.63 b	*Trichoderma harzianum* T5
51.08 b	1.70 b	*Trichoderma asperellum* T34
74.10 b	0.90 b	*Trichoderma hamatum* T382
69.78 b	1.05 b	كلوروثالونيل (Bravo)
0.00 a	3.48 a	شاهد Control

القيم المتبوعة بنفس الأحرف في نفس العامود لا يوجد بينها فروق معنوية بالاعتماد على اختبار توكي HSD عند مستوى إحتمال 0.05.

Mean values followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Tukey HSD test at P=0.05.

Abstract

Hammoudi, O. 2014. Effect of antagonistic microorganisms on gray mold caused by *Botrytis cinerea* on tomato and strawberry under laboratory and greenhouse conditions. Arab Journal of Plant Protection, 32(1): 64-71.

This study aimed to estimate the control potential of gray mold by using antagonistic microorganisms. Experiments were carried out in the laboratories and greenhouses (Snawbar station) of Lattakia Research Center. To confirm efficacy, *in vivo* tests were performed using strawberry fruits. Results showed that *Trichoderma hamatum* T382 and *Pseudomonas chlororaphis* MA342 had decreased fruit infection by 10 and 15%, respectively, as compared with the control treatment (100%). Whereas, no infection occurred following chlorothalonil (Bravo) fungicide treatment. Furthermore, the severity of infection, based on a 0–3 scale, decreased to 1.5 compared to the control (2.6). Treatment with fungicide gave the highest efficiency (100%), followed by treatment with T. *hamatum* T382 (91.25) and *P. chlororaphis* MA342 (83.03) as compared with the control (0%). Increase in the antagonist inoculum's concentration improved effectiveness. Bacterial suspensions containing more than 10^8 CFU/ml from *P. chlororaphis* or *Serratia plymuthica* were effective. Similarly, beneficial fungi at a concentration higher than 10^5 spores/ml led to improved effectiveness, and the application of these antagonists on greenhouse-grown tomato resulted in increased efficacy (53–74%) for all isolates tested as compared with the control.

Keywords: *Botrytis cinerea*; antagonists; bio-ontrol; grey mould; tomato; strawberry.

Corresponding author: Omar Hammoudi, Agricultural Research Center, Bouka, Lattakia, Syria, Email: ohammoudi70@yahoo.com

References المراجع

1. **الزميتي، محمد السعيد صالح.** 1997. المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية. الطبعة الاولى. دار الفجر للنشر و التوزيع، الجيزة، مصر. الصفحات 9-11.
2. **Barakat, R.M. and M.I. Al-Masri.** 2005. Biological control of gray mold disease (*Botrytis cinerea*) on tomato and bean plants by using local isolates of *Trichoderma harzianum.* Dirasat. Agricultural Sciences, 32**:** 145-156.
3. **Bloemberg, G.V. and B.J.J. Lugtenberg.** 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Current Opinion in Plant Biology, 4: 343-350.
4. **Burgess, D.R., T. Bretag and P.J. Keane.** 1997. Biological of seed borne *Botrytis cinerea* in chickpea with *Gliocladium roseum*. Journal of Plant Pathology, 46: 298-305.
5. **Dennis, C. and J. Webster.** 1971. Antagonistic of *Trichoderma* spp. The production of volatile antibiotics. Transaction of the British Mycological Society, 57: 41-48.
6. **De Souza, J.T. and J.M. Raaijmakers.** 2003. Polymorphisms within the prnD and pltC genes from pyrrolnitrin and pyoluteorin-producing Pseudomonas and *Burkholderia* spp. FEMS Microbiology Ecology, 1454: 1-14.
7. **Dubos, B.** 1992. Biological control of Botrytis Pudoc Scientific Publishers, 169-178.
8. **Elad, Y., J. Kohl and N.J. Fokkema.** 1995. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. Phytopathology, 84: 1193-1200.
9. **Elad, Y.** 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. Crop Protection, 13: 35-38.
10. **Elad, Y., B. Kirshner and Y. Gotlib.** 1993. Attempts to control *Botrytis cinerea* on roses by pre and postharvest treatments with biological and chemical agents. Crop Protection, 12: 69-73.
11. **Esposito, E. and M. Da Silva.** 1998. Systemics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critical Reviews in Microbiology, 24: 89-98.
12. **Fravel, D.R., K.K. Kim and G.C. Papavizas.** 1987. Viability of microsclerotia of *Verticillium dahliae* reduced by a metabolite produced by *Talaromyces flavus*. Phytopathology, 77: 616-619.
13. **Hammerschmidt, R. and J. Kuc.** 1995. Induced Resistance to Disease in Plants. Dor-drecht: Kluwer. 182 pp.
14. **Harman, G.E.** 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Plant Disease, 84: 377-393.
15. **Hmouni, A.** 2005. Study of the receptivity of tomato leaves to *Botrytis cinerea*, causal agent of grey mould in relation to the biocontrol activities of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Al Awamia, 31-48.
16. **Hutchinson, S.A**. 1971. Biological activity of the the British Mycological Society, 57: 185-200.
17. **Hutchinson, S.A. and M.E. Cowan.** 1972. Identification and biological effects of volatile metabolites from cultures of *Trichoderma harzianum*. Transaction of the British Mycological Society, 59: 71-77.
18. **Johnson, K.B.** 1994. Dose-response relationships and inundative biological control. Phytopathology, 84: 780-784.
19. **Kamensky, M., M. Ovadis, I. Chet and L. Chernin.** 2003. Soil-borne strain IC14 of *Serratia plymuthica* with multiple mechanisms of antifungal activity provides biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* diseases. Soil Biology and Biochemistry, 35: 323-331.
20. **Kapat, A., G. Zimand and Y. Elad.** 1998. Biosynthesis of pathogenicity hydrolytic enzymes by *Botrytis cinerea* during infection of bean leaves and *in- vitro*. Mycological Research, 102: 1017-1024.
21. **Kloepper, J.W., R.M. Zablotowicz, E.M. Tipping and R. Lifshitz.** 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. Pages 315- 327. In: The Rhizosphere and Plant Growth. D.L. Keister and P.B. Cregow (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
22. **Larena, P., P. Sabuqillo and A. De Cal.** 2003. Biocontrol of *Fusarium* and *Verticillium* wilt of tomato by *Penicillium oxalicum* under greenhouse and field condition, Journal of Phytopathlogy, 151: 507-512.
23. **Lazarovits, G. and J. Nowak.** 1997. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. HortScience, 32: 188-192.
24. **Leeman, M., J.A. Van Pelt, M.J. Hendrikx, R.J. Scheffer, P.A.H.M. Bakker and B. Schippers.** 1995. Biocontrol of *Fusarium* wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* strain WCS374. Phytopathology, 85: 1301-1305.
25. **Nelson, M.E. and M.L. Powelson.** 1988. Biological control of gray mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. Plant Disease, 72: 727-729.
26. **Nowak, J., S.K. Asiedu, S. Bensalim, J. Richards, A. Stewart, C. Smith, D. Stevens and A.V. Sturz.** 1998. From laboratory to applications: challenges and progress with in-vitro dual culture of potato and beneficial bacteria. Plant Cell Tissue Organ Culture, 52: 97-103.
27. **Segarra, G., S. Van der Ent, I. Trillas and C.M.J. Pieterse.** 2009. MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial. Plant Biology, 11: 90-96.
28. **Sutton, J.C. and G. Peng.** 1993. Bio control of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. Phytopathology, 83: 615-21.
29. **Tronsmo, A.** 1991. Biological and integrated control of *Botrytis cinerea* on apple with *Trichoderma harzianum*. Biological Control, 1: 59-62.
30. **Williamson, B.** 2007. *Botrytis cinerea:* the cause of

grey mould disease. Molecular Plant Pathology, 8: 561-580.

31. **Yandong, P., L. Xiaoguang, M. Yingxin, L. Chernin, G. Berg and K. Gao.** 2009. Induction of systemic resistance, root colonization and biocontrol activities of the rhizospheric strain of *Serratia plymuthica* are dependent on N-acyl homoserine lactones. European Journal of Plant Pathology, 124: 261-268

32. **Zhang, P.G., J.C. Sutton and A.A. Hokin.** 1994. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in container-grown black spruce seedlings. Canadian Journal of Forest Research, 24: 1312-1316.

Received: January 14, 2012; Accepted: January 7, 2013

تاريخ الاستلام: 2012/1/14؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2013/1/7