المكافحة الحيوية للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز

عبد الرضا طه سرحان[1] وماجد كاظم الشبلي[2]
(1) قسم علوم الحياة، كلية العلوم؛ (2) قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة القادسية، ديوانية، العراق.

الملخص

سرحان، عبد الرضا طه وماجد كاظم الشبلي. 2003. المكافحة الحيوية للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز. مجلة وقاية النبات العربية. 21: 102-108.

نفذ هذا البحث لتقدير كفاءة عدد من الأحياء الدقيقة المضادة، وهي فطور *Aspergillus niger*، *A. candidus*، *Trichoderma harzianum*، *T. pseudokoningii* و *Penicillium* sp.، والبكتريا *Bacillus cereus* وعزلتين من *Pseudomonas aeruginosa* (I+II) في تثبيط نمو ونشاط الفطور الممرضة *Alternaria alternata*، *Curvularia lunata*، *Rhizopus stolonifer* و *Fusarium solani* المرافقة لحبوب الرز. أدت جميع الأحياء المضادة إلى تثبيط نمو الفطور المرافقة للحبوب فيما عدا الفطر *R. stolonifer* الذي لم يتأثر نموه بالفطور المضادة وانخفض معدل نموه بوجود البكتريا المضادة فقط. وقد خفضت رشاحة مزارع الأحياء المضادة *T. harzianum* ونوعي الفطر *Aspergillus* وعزلتي البكتريا *P. aeruginosa* معنوياً من معدل قطر مستعمرات الفطور المرافقة للحبوب المنماة على وسط بطاطا/بطاطس دكستروز آجار (PDA). أما تأثير رشاحة الأحياء المضادة في الوزن الجاف للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز فأعطى نتائج إيجابية وكان أكفأها رشاحة كل من الفطر المضاد *A. niger* ونوعي الفطر *Trichoderma* ورشاحة البكتريا. كما أدت الرشاحات إلى خفض نسبة إنبات أبواغ الفطور الممرضة وطول أنابيب إنباتها لم تؤثر معاملة حبوب الرز بالأحياء المضادة ورشاحتها سلبياً في نسبة إنبات الحبوب باستثناء الفطر المضاد *Penicillium* sp. الذي خفض معنوياً من نسبة إنبات حبوب الرز، ولكن أدت جميعها إلى خفض أعداد الفطور المرافقة للحبوب التي قدرت على أساس النسبة المئوية للحبوب المصابة بالفطور.

كلمات مفتاحية: مكافحة حيوية، فطور ممرضة، رز، العراق.

المقدمة

يعد محصول الرز (*Oryza sativa* L.) من محاصيل الحبوب الصيفية المهمة في العالم، فهو غذاء أساسي لأكثر شعوب البلدان الاستوائية وشبه الاستوائية مما يجعله الغذاء الرئيس لأكثر من نصف سكان الكرة الأرضية. يحتل العراق المرتبة الثانية بعد مصر بالنسبة للمساحة المزروعة وكمية الإنتاج السنوي لمحصول الرز بالنسبة للوطن العربي حيث بلغت المساحة المزروعة والإنتاج الكلي للموسم الزراعي 1996/ 1997 حوالي 155000 هكتار و 403000 طناً، على التوالي (6). يهاجم الرز بعدد من الآفات التي تؤدي إلى نقص المحصول، وتعد الفطور من بين أهم تلك الآفات. بعضها يصيب المحصول وهو في الحقل مثل الفطر *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. الذي يسبب أمراض تعفن الحبوب والجذور وموت البادرات وتعفن عقد الساق، والفطر *Curvularia lunata* (Wak.) Boed. الذي يسبب أمراض تبقع الأوراق ولفحة وموت البادرات. تنتقل هذه الفطور التي تصيب المحصول في الحقل مع البذور بالإضافة إلى فطور أخرى تصيب الحاصل ويمكنها الاستمرار بالإصابة في المخازن وهي *Alternaria* spp. و *Rhizopus* spp. مسببة تلون وتلف الحبوب أثناء التخزين (22).

إن معظم التوجهات الحالية في مجال مكافحة الفطور الممرضة تقوم على أساس إيجاد طرائق ووسائل بديلة للمكافحة الكيمياوية من بينها المكافحة الحيوية بسبب الآثار الجانبية للعديد من المبيدات إضافة إلى ظهور حالات المقاومة في بعض المسببات المرضية إزاء البعض منها (14). وبسبب نجاح العديد من الدراسات في هذا المجال (2، 16)، ولغرض تعزيز هذا الاتجاه في العراق فقد هدف هذا البحث إلى دراسة: (أ) تأثير عدد من العزلات الفطرية والبكتيرية المضادة في تثبيط نمو مستعمرات الفطور المرافقة للحبوب *F. solani* (Mart.) Sacc. و *C. lunata* (Wak.) Boed. و *R. stolonifer* (Fr.) Lind. و *A. alternata* (Fr.) Keiss. في الوسط الغذائي الصلب (ظاهرة التضاد)؛ (ب) دراسة تأثير رشاحة مزارع الأحياء المضادة في معدل النمو القطري والوزن الجاف ونسبة إنبات أبواغ الفطور المرافقة للحبوب وطول أنابيب إنباتها؛ (جـ) تأثير الأحياء المضادة ورشاحتها في نسبة إنبات الحبوب والفطور المرافقة لها.

مواد البحث وطرائقه

الحبوب المستخدمة وعزل الفطور المرافقة لها

استخدمت حبوب الرز صنف "العنبر" والتي تم الحصول عليها من صوامع سايلو حبوب الشامية، محافظة القادسية، العراق، المخزونة من حصاد الموسم الزراعي 1997/1996. أخذت ثلاث عينات من الحبوب وزن كل منها كيلو غراماً واحداً ومزجت مع بعضها بشكل جيد (عينة مركبة) ثم نقلت إلى المختبر، وقسمت إلى ثلاثة أجزاء متساوية، شكل كل منها مكرراً لأغراض البحث.

عزلت الفطور المرافقة لحبوب الرز باستخدام طريقة أطباق بطاطا دكستروز آجار (PDA). قسمت الحبوب المعدة لتجربة العزل إلى مجموعتين بواقع 200 حبة لكل مجموعة. عقمت المجموعة الأولى سطحياً وذلك بغمرها لمدة 3 دقائق بمحلول هيبوكلويد الصوديوم بتركيز 1% كلور حر. أما المجموعة الثانية فغمرت بالماء المقطر

المعقم لمدة 3 دقائق. جففت الحبوب في المختبر وزرعت على وسط بطاطا دكستروز آجار وبواقع 5 حبوب في كل طبق وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 س و 12 ساعة ضوء يومياً لمدة 7 أيام، فحصت المستعمرات النامية وحددت الفطور النامية تبعاً لشكل المستعمرات الفطرية والحوامل الكونيدية والأبواغ والإثمارات الفطرية الأخرى وباستخدام بعض مفاتيح التصنيف (11، 21).

كفاءة التضاد وتأثير الأحياء المضادة في نمو الفطور المرافقة لحبوب الرز

تم تقييم كفاءة التضاد لخمسة أنواع من الفطور المضادة: *Trichoderma harzianum* (Rifai)، *T. pseudokoningii* (Rifai)، *Aspergillus niger* (Van Tiegham)، *A. candidus* (Link)، *Penicillium* sp. ونوعين من البكتيريا *Bacillus cereus* (Frankland) و *Pseudomonas aeruginosa* (I, II) التي عزلت من حبوب الرز ومن تربة حقول الرز ضد أربعة أنواع من الفطور المرافقة للحبوب *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.، *Curvularia lunata* (Wak.) Boed.، *Alternaria alternata* (Fr.) Keiss. و *Rhizopus stolonifer* (Fr.) Lind. باستخدام طريقة الأطباق (8).

وضعت جميع الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 25 س لمدة سبعة أيام واستخدم سلم تقييس خماسي(8) لتقييم درجة التضاد بين الفطر الممرض والكائن المضاد حيث: 1= الكائن المضاد يغطي كل طبق، 2= الكائن المضاد يغطي 4/3 الطبق، 3= الكائن المضاد يغطي نصف الطبق، 4= الكائن الممرض يغطي 4/3 الطبق، 5= الكائن الممرض يغطي كل الطبق.

أخذت عينة من مستعمرات الفطور المرافقة للحبوب عند منطقة التماس مع الأنواع المضادة وفحصت بالمجهر الضوئي وسجلت التغيرات المحتملة في شكل الخيوط الفطرية والأبواغ.

تأثير رشاحة الأحياء المضادة في معدل النمو القطري والوزن الجاف ونسبة إنبات أبواغ الفطور المرافقة لحبوب الرز

نميت الأنواع المضادة في وسط بطاطا دكستروز السائل (PDB) عند درجة حرارة 25 س ولمدة أسبوعين، ثم رشحت أول مرة بواسطة ورق ترشيح ثم خلال مرشحات بكتيرية للحصول على رشاحة معقمة.

خلطت رشاحة كل نوع مضاد بنسبة 10% مع المستنبت بطاطا دكستروز آجار قبل توزيعه في الأطباق، ولم تستخدم رشاحة في معاملة الشاهد. لقحت الأطباق بأقراص متساوية (قطر 8 مم) من مستعمرة حديثة للفطور المرافقة لحبوب الرز (*F. solani*، *C. lunata*، *R. stolonifer* و *A. alternata*) ثم حضنت عند درجة حرارة 25 س لمدة أسبوعين، ومن ثم قيست أقطار المستعمرات الفطرية المتطورة. واختبر تأثير رشاحة مزارع الأحياء المضادة في كتلة نمو الفطور المرافقة للحبوب في الأوساط السائلة. حضر الوسط السائل بطاطا دكستروز في دوارق مخروطية معقمة سعة 250 مل احتوى كل منها على 50 مل فقط، ثم أضيف إليها رشاحة الأحياء المضادة بنسبة 10% لكل دورق وتركت دوارق بدون رشاحة الأحياء المضادة استخدمت كشاهد. لقح كل دورق بقرص قطره 0.8 سم من مزرعة فتية عمرها 7–10 أيام من الفطور الممرضة وحضنت عند درجة حرارة 25 س لمدة أسبوع واحد، ثم رشحت وحسبت الأوزان الجافة.

ولدراسة تأثير الرشاحة في نسبة إنبات الأبواغ وأطوال أنابيب إنباتها فقد استخدمت شرائح زجاجية مقعرة وضع فيها قطرة من المعلق البوغي المرافق للحبوب، ثم مزجت مع قطرة من رشاحة أحد الأحياء المضادة (تركيز 20%). وضعت كل شريحة على قضيب زجاجي بشكل حرف V في أطباق بتري زجاجية حاوية على أوراق ترشيح معقمة رطبت بماء مقطر معقم. وفي معاملة الشاهد أضيفت قطرة من رشاحة الوسط الغذائي مع قطر من معلق أبواغ الفطر الممرض. حضنت جميع الأطباق عند درجة حرارة 25 س لمدة 1–20 ساعة. فحصت جميع الشرائح تحت المجهر الضوئي وحسبت أعداد الأبواغ المنبتة وأطوال أنابيب الإنبات في كل المعاملات.

تأثير معاملة حبوب الرز بالأحياء المضادة ورشاحتها في نسبة الإنبات وفي الفطور المحمولة بها

أجريت هذه التجربة لمعرفة التأثيرات الجانبية للأحياء المضادة إن وجدت في نسبة إنبات الحبوب جراء معاملتها بها عند استخدامها في المكافحة الحيوية للفطور الممرضة المرافقة للحبوب. استخدمت مجموعتين من الحبوب الأولى عقمت سطحياً وكما ورد أعلاه والمجموعة الثانية تركت بدون تعقيم سطحي. حضر معلق أبواغ الفطور المضادة وذلك بإضافة 10 مل من الماء المقطر المعقم لكل طبق من مزارع الفطور المضادة بعمر 7–10 أيام وقد فصلت الأبواغ باستخدام الناقل المعقم، أما معلق البكتريا فقد تم الحصول عليه عن طريق تلقيح الوسط السائل بطاط دكستروز بالبكتريا المضادة وحضن لمدة 24 ساعة ثم رسبت الخلايا البكتيرية باستخدام جهاز الطرد المركزي (8000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة) واخذ الراسب وعلق في ماء مقطر معقم، بعدها وضع معلق الفطور ومعلق البكتريا في أطباق بتري ثم أضيف إليها مادة مثيل السليلوز بنسبة 0.5%، ثم وضعت حبوب الرز المعقمة وغير المعقمة وتركت لمدة نصف ساعة لضمان التصاق الأبواغ الفطرية والخلايا البكتيرية بسطوح الحبوب أما في معاملة المقارنة فقد وضعت الحبوب في محلول مثيل السليلوز فقط وللفترة الزمنية نفسها للتأكد فيما إذا كان هناك تأثير لهذه المادة في الإنبات. بعدها أخرجت الحبوب وتركت لمدة 24 ساعة لكي تجف ثم وزعت على أطباق بتري معقمة حاوية على أوراق ترشيح معقمة رطبت بماء مقطر معقم وبواقع خمسة حبوب لكل طبق وثلاث مكررات لكل معاملة ثم وضعت في حاضنة عند درجة حرارة 25 س لمدة أسبوع ثم حسبت نسبة إنبات الحبوب.

ولاختبار تأثير رشاحة الأحياء المضادة في نسبة إنبات حبوب الرز فقد غمرت الحبوب في رشاحة الأحياء المضادة لمدة ساعة، ثم أخرجت وجففت باستخدام أوراق ترشيح معقمة تحت ظروف المختبر، أما في معاملة المقارنة فقد غمرت في رشاحة الوسط الغذائي السائل بطاطا دكستروز وللفترة الزمنية نفسها. وقد اتبعت نفس الخطوات أعلاه في توزيع الحبوب على الأطباق والحضن وقياس نسبة الإنبات.

ولغرض دراسة تاثير الرشاحة في الفطور الممرضة على الحبوب فقد اتبعت الخطوات نفسها الواردة أعلاه لتحضير الحبوب المعاملة بالرشاحة حيث نقلت الحبوب إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط الزراعي بطاطا دكستروز آجار وبواقع خمسة حبوب لكل طبق وثلاث مكررات لكل معاملة وحضنت عند درجة حرارة 25 س تحت أشعة الضوء المتبادلة مع الظلام لكل فترة 12 ساعة يومياً ولمدة سبعة أيام ثم جرى فحص وتشخيص الفطور النامية على الحبوب وحساب نسبة كل فطر حسب طريقة Agrawal وآخرون (7).

التحليل الاحصائي

نفذت التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل وجرى اختبار الفروقات المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن عند مستوى 5% (1).

النتائج والمناقشة

تأثير الأحياء المضادة في نمو الفطور المرافقة لحبوب الرز

يبين الجدول 1 أن جميع الأحياء المضادة المستخدمة تمتلك قدرة تضادية جيدة ضد الفطور المرافقة *F. solani*، *C. lunata*، *A. alternata* و *R. stolonifer* وربما كان ذلك خلال افراز مواد سامة كالمضادات الحيوية والأنزيمات المحللة والتنافس على الغذاء والتطفل (12، 20). ويلاحظ أن درجة التضاد في جميع المعاملات كانت 2 أو أقل فيما عدا الفطر *R. stolonifer* إذ كانت درجة التضاد تتراوح ما بين 2–5 مما يشير إلى عدم استجابة هذا الفطر لتأثير الأحياء الدقيقة المضادة وخصوصاً الفطور المضادة، وقد أشير سابقاً إلى إن الأحياء المضادة قادرة على تثبيط نمو الفطور الممرضة (8، 17، 18).

تأثير رشاحة الأحياء المضادة في بعض صفات الفطور المرافقة لحبوب الرز

يوضح جدول 2 بأن جميع الأحياء المضادة المستخدمة قد خفضت معنوياً من معدل النمو القطري للفطور الممرضة فيما عدا الفطر الممرض *R. stolonifer* الذي لم يستجب لرشاحة جميع الأحياء المضادة فيما عدا رشاحة البكتريا *P. aeruginosa*، التي كانت أشد الرشاحات تأثيراً. تعزى تأثيرات هذه الرشاحة إلى المواد المثبطة لنمو هذا الفطر وخاصة الجنس *Trichoderma* الذي عرف بإنتاجه المضادات الحيوية التالية: Emodin، Chrysophancol، Gliotoxine، Pachybasin، Trichodermin و Trichodermol، إضافة إلى أنزيمات محللة مثل Chitinase و Proteolytic enzymes (10). كما ينتج الجنس *Penicillium* البنسلين على اختلاف أنواعه والجنس *Aspergillus* الذي ينتج الـ Griseofulavin و Fumagillin (13). وقد أظهرت البكتريا *P. aeruginasa* كفاءة عالية في تثبيط نمو هذا الفطر الممرض فيما أظهرت البكتريا *B. cereus* كفاءة جيدة، ويرجع تأثير البكتريا إلى أنها كائنات سريعة النمو وأن هذين الجنسين ينتجان المضادات الحياتية والمواد المثبطة خصوصا الـ Pyocyanin الذي تنتجه البكتريا *P. aeruginosa* (5) والـ Ceraxin الذي تنتجه البكتريا *B. cereus* (4).

أما بخصوص تأثير الرشاحة في الوزن الجاف للفطور الممرضة، فقد أحدثت جميع الرشاحات خفضاً معنوياً للوزن الجاف للفطر الممرض *F. solani* وكانت رشاحة الفطر *T. Harzianum* أكثرها تاثيراً حيث خفضت معدل الوزن الجاف من 0.31 غ في حالة الشاهد إلى 0.08 غ في حالة المعاملة بالرشاحة (جدول 3).

جدول 1. درجة التضاد على الوسط الغذائي بطاطا- دكستروز- اجار للأحياء المضادة على الفطور المرافقة لحبوب الرز.

Table 1. Degree of antagonisim (in vitro) of the biological agents against fungi associated with rice seeds.

المعاملات Treatments الأحياء المضادة Antagonistic microorganisms	درجات التضاد بين الأحياء المضادة والفطور الممرضة* Class of antagonism*			
	Fusarium solani	*Curvularia lunata*	*Alternaria alternata*	*Rhizopus stolonifer*
الشاهد Control	5.0 a	5.0 a	5.0 a	5.0 a
Trichoderma harzianum	1.6 bc	1.0 c	1.0 c	2.0 b
Trichoderma pseudokoningii	2.0 b	1.3 c	1.6 c	3.0 b
Aspergillus niger	1.6 bc	2.0 b	1.3 c	5.0 a
Aspergillus candidus	1.6 bc	2.3 b	1.6 bc	5.0 a
Penicillium sp.	1.3 c	1.2 c	1.3 c	4.0 ab
Bacillus cereus	1.0 c	1.5 c	1.6 bc	5.0 a
Pseudomonas aeruginosa I	1.3 c	1.3 c	1.3 bc	4.6 a
Pseudomonas aeruginosa II	1.0 c	1.0 c	1.3 bc	5.0 a

* تم استخدام مقياس من (1- 5) لحساب المساحة التي يغطيها كل من الممرض والمضاد على الوسط.
المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

* A 1-5 scale was used to determine the degree of antagonism on PDA.
Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

جدول 2. تأثير رشاحة عوامل المكافحة الحيوية في النمو القطري للفطور الممرضة.

Table 2. Effect of the culture/ filtrates of the biological agents on radial growth of pathogenic fungi.

Radial growth of pathogenic fungi النمو القطري للفطريات الممرضة				المعاملات Treatments رشاحات الأحياء المضادة Filtrates of antagonistic microorganisms
Rhizopus stolonifer	*Alternaria alternata*	*Curvularia lunata*	*Fusarium solani*	
9.0 a	8.0 a	9.0 a	8.3 a	الشاهد Control
9.0 a	3.5 c	1.6 e	3.2 c	*Trichoderma harzianum*
9.0 a	5.6 b	7.8 b	5.8 b	*Trichoderma pseudokoningii*
9.0 a	2.9 cd	2.2 e	5.0 b	*Aspergillus niger*
9.0 a	4.2 bc	6.3 c	3.6 c	*Aspergillus candidus*
9.0 a	4.5 bc	8.1 ab	5.5 b	*Penicillium sp.*
8.7 a	2.3 d	4.0 d	5.6 b	*Bacillus cereus*
8.1 a	1.5 d	2.3 e	3.8 c	*Pseudomonas aeruginosa I*
6.3 b	1.8 d	5.0 d	4.0 c	*Pseudomonas aeruginosa II*

المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

جدول 3. تأثير رشاحة عوامل المكافحة الحيوية في الوزن الجاف للفطور الممرضة.

Table 3. Effect of culture filtrates of the biological agents on the mycelial dry weight of the pathogenic fungi.

Dry weight of pathogenic fungi الوزن الجاف للفطور الممرضة (غ)				المعاملات Treatments رشاحات الأحياء المضادة Filtrates of antagonistic microorganisms
Rhizopus stolonifer	*Alternaria alternata*	*Curvularia lunata*	*Fusarium solani*	
0.42 a	0.61 a	0.42 a	0.31 a	الشاهد Control
0.27 b	0.12 c	0.17 b	0.08 c	*Trichoderma harzianum*
0.40 a	0.18 c	0.14 b	0.15 bs	*Trichoderma pseudokoningii*
0.31 b	0.28 b	0.22 b	0.16 b	*Aspergillus niger*
0.28 b	0.25 b	0.04 c	0.13 b	*Aspergillus candidus*
0.11 c	0.51 ab	0.30 ab	0.16 b	*Penicillium sp.*
0.24 b	0.22 b	0.18 b	0.11 b	*Bacillus cereus*
0.22 b	0.11 c	0.14 b	0.11 b	*Pseudomonas aeruginosa I*
0.25 b	0.48 ab	0.18 b	0.13 b	*Pseudomonas aeruginosa II*

المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

أما بخصوص الفطر الممرض *C. lunata* فقد اختلفت الرشاحات في قدرتها على خفض معدل الوزن الجاف ما عدا الفطر *Penicillium* sp. وكانت رشاحة الفطر *A. candidus* الأكثر تأثيراً حيث خفضت المعدل من 0.42 غ في معاملة الشاهد إلى 0.04 غ في حالة المعاملة بالرشاحة. إن عدم تأثر الفطر *C. lunata* برشاحة النوع *Penicillium* sp. قد أكد نتائج النمو القطري للفطر المذكور في جدول 2 ، وأن سبب ذلك قد يعود إلى عدم تحسس هذا الفطر للمواد المثبطة التي ينتجها الفطر المضاد (3).

إن تأثير رشاحة الأنواع المضادة قد تم استعراضه على إنبات الأبواغ وأطوال أنابيب الإنبات الفطور الممرضة حيث وجد بأن رشاحة *T. pseudokoningii*، *T. harzianum* و *A. niger* قد خفضت إنبات أبواغ الفطر الممرض *F. solani* بنسبة 18.0، 26.0 و 26.0%، على التوالي (جدول 4).

احتلت رشاحة الأحياء المضادة *Penicillium* sp.، *B. cereus* و *A. candidus* الدرجة الثانية إذ اختزلت نسب الإنبات بمعدل 36.0، 40.0 و 40.0% على التوالي، أما رشاحة عزلتي البكتريا *P. aeruginosa* فقد خفضتا من نسبة الإنبات لكن تأثيرهما لم يكن معنوياً، ويتضح من الجدول 4 أن جميع الرشاحات قللت معنوياً من طول أنبوبة الإنبات للفطر *F. solani* مما يبين بأن المواد المثبطة التي تنتجها الأحياء المضادة ثبطت استطالة أنبوبة الإنبات.

أما بالنسبة للفطر *C. lunata* ، فقد تاثرت نسبة إنبات أبواغه ببعض الرشاحة وإن أكثر الرشاحات تأثيراً كانت رشاحة البكتريا *P. aeruginosa* I، *P. aeruginosa* II، *B. cereus* والفطر *A. candidus* اذ أعطت نسبة إنبات منخفضة جدا بلغت 0.0، 6.0، 10.0 و 13.0،% على التوالي، بينما كانت نسبة الإنبات في معاملة الشاهد 80.00% وقد يعزى تأثير هذه الأحياء الدقيقة (الفطور والبكتريا) على الفطور الممرضة إلى قدرتها على إفراز مواد مضادة ومواد مثبطة لها تأثير مباشر على إنبات الأبواغ.

أما أبواغ الفطر *A. alternata* فلم تتأثر برشاحة الأحياء المضادة فيما عدا البكتريا *B. cereus* وقد أعطت رشاحة نوعي الفطر *Aspergillus* تثبيطا كاملا لإنبات أبواغ الفطر *R. stolonifer*.

خفضت رشاحة جميع الأحياء المضادة معنويا من معدل أطوال أنبوبة إنبات أبواغ الفطور الممرضة ما عدا رشاحة الفطر *A. niger* مع الفطر الممرض *C. lunata*، وكان تأثير رشاحة الأحياء المضادة I *P. aeruginosa*، *B. cereus*، *T. harzianum*، *A. candidus* و *T. pseudokoningii* هي الأفضل وهذه النتائج تؤكد الدور التثبيطي لرشاحات الأحياء المضادة (9).

تأثير معاملة الحبوب بالأحياء المضادة ورشاحتها في نسبة إنبات الحبوب والفطور المرافقة لها

يبين الجدول 5 بان جميع الأحياء المضادة لم تخفض معنويا من نسبة إنبات الحبوب فيما عدا رشاحة الفطر المضاد *Penicillium* sp. الذي أدى إلى خفض معنوي في نسبة إنبات الحبوب.

أما الفطر المضاد *A. niger* والبكتريا المضادة *B. cereus* فقد حققتا زيادة معنوية في نسب إنبات حبوب الرز مما يدلل على وجود عامل التحفيز في الرشاحة.

جدول 4. تأثير رشاحة عوامل المكافحة الحيوية في نسبة إنبات الأبواغ وطول الأنبوب الجرثومي للفطور الممرضة.
Table 4. Effect of the culture filtrates of the antagonistic microorganisms on the percentage of spore germination and on germ tube length of the pathogenic fungi.

Rhizopus stolonifer		*Alternaria alternata*		*Curvularia lunata*		*Fusarium solani*		المعاملات Treatments رشاحة الأحياء المضادة Filtrates of antagonistic microorganisms
طول الانبوب الجرثومي (مايكروميتر) Length of germ tube/ µm	إنبات الأبواغ % Spore germination %	طول الانبوب الجرثومي (مايكروميتر) Length of germ tube/ µm	إنبات الأبواغ % Spore germination %	طول الانبوب الجرثومي (مايكروميتر) Length of germ tube/ µm	إنبات الأبواغ % Spore germination %	طول الانبوب الجرثومي (مايكروميتر) Length of germ tube/ µm	إنبات الأبواغ % Spore germination %	
53.0 a	30.0 ab	71.0 a	80.0 a	39.9 a	80.0 a	14.7 c	95.0 a	الشاهد Control
5.7 b	20.0 bc	22.8 b	70.0 a	7.1 cd	23.0 c	8.6 d	26.0 c	*Trichoderma harzianum*
71.2 a	20.0 bc	51.3 b	50.0 ab	17.1 bc	73.0 a	31.3 a	18.0 cd	*Trichoderma pseudokoningii*
0.0 c	0.0 d	28.5 b	60.0 ab	34.2 a	56.0 b	9.5 cd	26.0 c	*Aspergillus niger*
0.0 c	0.0 d	4.3 b	56.0 ab	8.8 cd	13.0 cd	16.1 c	40.0 c	*Aspergillus candidus*
24.2 ab	36.0 ab	48.4 b	76.0 ab	25.6 b	66.0 ab	11.4 c	36.0 c	*Penicillium sp.*
12.8 b	30.0 ab	8.6 b	30.0 b	5.7 cd	10.0 cd	13.2 c	40.0 c	*Bacillus cereus*
11.4 b	37.0 a	11.4 b	80.0 a	0.0 d	0.0 d	27.5 b	85.0 ab	*Pseudomonas aeruginosa I*
2.9 c	6.0 cd	19.9 b	56.0 ab	17.1 bc	6.0 d	13.3 c	71.0 ab	*Pseudomonas aeruginosa II*

المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.
Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

جدول 5 . تأثير معاملة حبوب الرز بعوامل المكافحة الحيوية ورشاحتها في نسبة إنبات الحبوب
Table 5. Effect of biological agents and its filtrates on the rice seed germination

نسبة إنبات الحبوب (%) Percentage of rice seeds germination				
بذور غير معقمة سطحياً Seed not superficially disinfected		بذور معقمة سطحياً Superficially disinfected seeds		المعاملات Treatments الأحياء المضادة Antagonistic microorganisms
رشاحة الأحياء المضادة Filtrates of biological agents	معلق الأبواغ الفطرية أو الخلايا البكتيرية Spore or bacterial suspension	رشاحة الأحياء المضادة Filtrates of biological agents	معلق الأبواغ الفطرية أو الخلايا البكتيرية Spore or bacterial suspension	
81 bc	85 b	83 b	80 b	الشاهد Control
85 b	93 a	83 b	82 b	*Trichoderma harzianum*
95 a	90 ab	86 ab	76 b	*Trichoderma pseudokoningii*
100 a	100 ab	100 a	100 a	*Aspergillus niger*
70 bc	80 bc	90 ab	70 b	*Aspergillus candidus*
89 ab	38 d	93 a	30 c	*Penicillium sp.*
90 ab	86 b	80 bc	91 a	*Bacillus cereus*
75 c	82 bc	60 d	73 b	*Pseudomonas aeruginosa I*
70 c	74 c	61 d	70 b	*Pseudomonas aeruginosa II*

المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.
Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

يوضح جدول 6 كفاءة جميع رشاحات الأحياء المضادة في خفض نسبة الفطور الممرضة *C. lunata* ، *R. stolonifer* و *A. alternata* على حبوب الرز المعاملة بالقياس مع الحبوب غير المعاملة، أما بالنسبة للفطر الممرض *F. solani* فقد أعطت رشاحة الفطر المضاد *T. harzianum* ورشاحة البكتريا المضادة *B. cereus* افضل النتائج مقارنة بالأحياء المضادة الأخرى، إن مثل هذه التأثيرات الإيجابية على الحبوب المعاملة قد استعرضت بدراسات عديدة، فقد وجد في دراسة سابقة بان معاملة حبوب الحنطة برشاحة الفطر *T. harziaum* أدى إلى حمايتها من أمراض تعفن البذور وموت البادرات التي يسببها الفطر *Drechslera* sp. (19)، وأن البكتريا *Bacillus* spp. تقوم بإنتاج المضادات الحيوية وخصوصاً المضاد الحيوي Ceraxin E الذي يؤدي إلى تثبيط العديد من الفطور (4).

نستنتج من هذه الدراسة بأن جميع الأحياء المضادة أظهرت قدرة تضادية جيدة للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز وان معاملة الحبوب بالأحياء المضادة ورشاحتها لم يؤد إلى خفض حيويتها ونسبة إنباتها باستثناء المعاملة بالفطر المضاد *Penicillium* sp. تؤكد نتائج الدراسة إمكانية اتباع طريقة معاملة حبوب الرز برشاحة الأحياء المضادة خصوصا الفطر المضاد *T. harzianum* والبكتريا المضادة *B. cereus* المعدة للزراعة وليس للاستهلاك البشري، وذلك قبل الخزن أو البذار لحمايتها من الإصابة بالفطور الممرضة.

جدول 6. تأثير رشاحة عوامل المكافحة الحيوية في نسبة الفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز.

Table 6. Effect of culture filtrates of the antagonistic microorganisms on the percentage of pathogenic fungi associated with rice seeds.

Percentage of the pathogenic fungi on rice seeds (%) نسبة تواجد الفطور الممرضة على بذور الرز (%)								
Rhizopus stolonifer		*Alternaria alternata*		*Curvularia lunata*		*Fusarium solani*		
بذور معاملة Treated seeds	بذور غير معاملة Untreated seeds	بذور معاملة Treated seeds	بذور غير معاملة Untreated seeds	بذور معاملة Treated seeds	بذور غير معاملة Untreated seeds	بذور معاملة Treated seeds	بذور غير معاملة Untreated seeds	المعاملات Treatments الأحياء المضادة Antagonistic microorganisms
0.0 c	10.0 a	2.2 a	19.4 a	0.8 a	29.0 a	1.7 c	70.6 ab	*Trichoderma harzianum*
0.9 c	11.1 a	2.1 a	21.0 ab	0.0 b	17.0 c	20.9 ab	61.6 bc	*Trichoderma pseudokoningii*
0.0 c	13.3 a	1.1 b	25.0 b	0.0 b	10.6 cd	23.0 a	80.0 a	*Aspergillus niger*
0.0 c	11.7 a	2.8 c	15.0 a	0.0 b	25.6 ab	20.7 b	4.00 d	*Aspergillus candidus*
5.1 a	15.9 a	0.2 b	13.3 a	0.1 b	20.0 bc	13.4 b	56.6 c	*Penicillium sp.*
0.0 c	20.0 a	0.0 c	15.8 a	0.9 a	30.0 a	0.00 c	50.1 cd	*Bacillus cereus*
3.1 b	14.4 a	0.3 b	13.3 a	0.4 ab	15.2 c	26.6 a	63.0 b	*Pseudomonas aeruginosa I*
0.3 c	12.2 a	0.5 b	13.0 a	0.1 b	5.8 d	14.0 b	71.0 ab	*Pseudomonas aeruginosa II*

المتوسطات العمودية التي تشترك بالأحرف الأبجدية نفسها لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

Numbers in the same colomn followed by the same letters are not significantly different at 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

Abstract

Sarhan, A.R.T. and M. K. A. Shibly. 2003. Biological Control of Pathogenic Fungi Associated with Rice Seeds. Arab J. Pl. Prot. 21: 102-108.

This research was carried out to evaluate the efficiency of some antagonistic microorganisms, fungi and bacteria: *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii, Aspergillus niger, A. candidus, Penicillium* sp., *Bacillus cereus*, and two isolates of *Pseudomonas aeruginosa*(I&II), to inhibit the pathogenic fungi associated with rice seeds. Results showed that all antagonistic organisms inhibited the pathogenic fungi except *R. stolonifer* whose growth decreased only in response to the bacterial treatment. It was found that the culture filtrates of the antagonistic microorganisms, *T. harzianum*, the two species of *Aspergillus* and the two isolates of *P. aeruginosa* reduced significantly the radial growth of the associated fungi grown on PDA. The culture filtrates of the antagonistic organisms also reduced the mycelium dry weight of the pathogenic fungi, and the filtrates reduced spore germination and germ tube elongation. The treatment of rice seeds with antagonistic organisms or its filtrates did not have any negative effect on seed germination except the treatment with *Penicillium* sp. which reduced rice seed germenation, but the filtrates reduced the number of fungi associated with seeds which was determined on the basis of infected seeds.

Key words: Biological control, pathogenic fungi, rice, Iraq.

Corresponding author: A.R.T. Sarhan, Department of Biology, College of Science, University of Al-Qaadissiya, Diwaniya, Iraq.

References

المراجع

1. **الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد.** 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. 263 صفحة.
2. **الظويهري، زهير حميد عبود.** 1990. المكافحة الحيوية لمرض تعفن الجذور الذي يسببه الفطر *Helminthosprium sativum*. أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة صلاح الدين، اربيل، العراق. 97 صفحة.
3. **سرحان، عبد الرضا طه وماجد هزاع البياتي.** 1991. التضاد الحيوي للفطر *Alternaria alternata* باستخدام بعض الفطور والبكتريا. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 22(1): 206-215.

4. **لفتة، عباس حمود.** 1978. المضادات الحياتية المنتجة من بكتريا جنس *Bacillus*. أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة، العراق. 106 صفحة.
5. **يعقوب، حازم حنا.** 1985. إنتاج البيوسيانين الخام Pyocyanin من بكتريا *P. aeruginosa* وإمكانية استخدامه كمطهر في مجال الصناعات الغذائية. أطروحة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. 118 صفحة.
6. **مهدي، علي سليم، شاهر فدعوس نويهي، محمد حسن كاظم ومضر محمد علي.** 2001. تقويم أصناف رز ناتجة من التهجين بين العنبر المحلي وصنفين مدخلين. مجلة الزراعة العراقية، 6 (1):35-44.
7. **Agrawal, P.C., C.N. Mortensen and S.B. Mathur.** 1989. Seed borne diseases and seed health testing of rice. Plant Disease, 76(10): 1013-1017.
8. **Bell, D.K., H.O. Wells and C.R. Markham.** 1982. *In vitro* antagonism *of Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72: 379-382.
9. **De-Guzman, F.S., J.B. Gloer, D.T. Wicklow and P.F. Dowd.** 1992. New diketopiperazine metabolites from the sclerotia of *Aspergillus ochraceus*. Journal of the Natural Products, 55(7): 931-939.
10. **Domsch, K.H. and W. Gams.** 1970. Fungi in agriculture soils. Longman Group limited 290 pp.
11. **Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson.** 1980. Compendium of soil fungi (Vol. 1) Academic Press Asubsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Puplishers, London. 859 pp.
12. **Dossantos, A.F., and O.D. Dhingra.** 1982. Pathogenicity of *Trichoderma* spp. On *Sclerotinia sclerotiorum*. Can. J. Botany, 60: 472- 475.
13. **Egorov, N.S.** 1985. Antibiotics: A scientific approach. Mir Publishers Moscow.
14. **Freeman, S. and R.J. Rodriguez.** 1993. Genetic conversion of fungal plant pathogens to a non pathogenic mutulist. Science (Washington DC) 250(5104): 75- 78.
15. **Gracia, S.B. and E. Lippman.** 1972. The bursting tendancy of fungi: Presumptive evidence for delicate balance between wall synthesis and wall lysis in apical growth. Journal of General Microbiology, 27(3): 484-500.
16. **Huber, D.M**. 1983. Non- fungicidal, chemical control of soil-borne disease. Proceeding of. Annual Fertilizer Conference of Pacific North West, Idaho-Moscow: 95- 98.
17. **Ikotum, T. and O. H. Agboola.** 1992. *In vitro*, using the microorganisms in inhibtion of pathogenic fungi growth. Egyptian Journal of Microbiology, 24(3):415-421.
18. **Liu, S. and R. Baker.** 1980. Mechanism of biological control in soil supressive to *Rhizoctonia solani.* Phytopathology, 70: 404-412.
19. **Luz, W.C.D.** 1994. Effect of microbs associated with seeds on the control of wheat pathgenic fungi. Fitopathology Brasileria, 19(2): 144-148.
20. **Mckeen, C.D., C.C. Reilly and P.L. Pusey.** 1986. Production and partial characterization of antifungal substances antagonistic to *Monilinia fructicola* from *Bacillus subtilis*. Phytopathology, 76: 136- 139.
21. **Nelson, P.E., T.A. Tousson and C.A. Marasa.** 1982. *Fusarium* species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State Univ. Pres. 211 pp.
22. **OU, S.H.** 1972. Rice disease. Commonwealth Mycological Institute Kew Survey. England. 368 pp.

تاريخ الاستلام: 2000/10/24، تاريخ الموافقة على النشر: 2002/10/10

Received: October 24, 2000; Accepted: October 10, 2002