

## تقييم القدرة التضادية لأربعة وثلاثين عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ضد الفطر *Macrophomina phaseolina* تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي

حمديّة زاير علي حافظ<sup>1</sup>، هادي مهدي عبود<sup>1</sup>، فرقد عبد الرحيم عبد الفتاح الراوي<sup>2</sup> وسميرة عودة خليوي<sup>1</sup>  
(1) وزارة العلوم والتكنولوجيا، ص.ب. 765، بغداد، العراق؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

### المخلص

حافظ، حمديّة زاير علي، هادي مهدي عبود، فرقد عبد الرحيم عبد الفتاح الراوي وسميرة عودة خليوي. 2005. تقييم القدرة التضادية لأربعة وثلاثين عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ضد الفطر *Macrophomina phaseolina* تحت ظروف المختبر والبيت الزجاجي. مجلة وقاية النبات العربية. 23: 44-50.

استخدمت في هذه الدراسة 34 عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ضد عزلة عالية الامراضية لمحصول السمسم من الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. أظهرت نتائج اختبار القدرة التضادية باستخدام تقانة الزرع المزدوج أن 14 عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* كانت ذات قدرة تضادية عالية تراوحت ما بين 1.1-1.8 اعتماداً على سلم التضاد (1-5). أما في اختبار البيت الزجاجي فقد حققت العزلتين T21 و T22 أعلى خفض في شدة الإصابة لمحصول السمسم بمرض التعفن الفحمي، إذ بلغت شدة الإصابة 0.29 و 0.31، على التوالي بعد 5 أسابيع من الزراعة مقارنة بمعاملة الشاهد (1.0). وشخصت هاتين العزلتين على أنهما *T. pseudokoningii* (Rafi) و *T. viride* (Rafi)، على التوالي.  
كلمات مفتاحية: التعفن الفحمي، السمسم، مكافحة الاحيائية، العراق.

### المقدمة

بفعل الآثار السلبية التي خلفها الاستخدام المفرط للكيميائيات الزراعية بشكل عام والمبيدات الكيميائية بشكل خاص، ركزت جهود حديثة للتقليل من استخدام هذه المواد الكيميائية بالدعوة لتبني نظم مكافحة متكاملة للآفات الزراعية، وتعد مكافحة الإحيائية أحد أهم مرتكزاتها الأساسية. إذ شهد القرن الماضي ظهور مبيدات إحيائية مادتها الفعالة أحياء مجهرية من فطريات وكتيريا لتحل كلما كان ذلك ممكناً محل المبيدات الكيميائية (2، 5، 15).

إن برامج مكافحة الإحيائية لمسببات أمراض النبات التي تصيب المحاصيل الحقلية لم تحقق ذلك النجاح الذي حققته برامج مكافحة الإحيائية لمسببات أمراض النبات التي تصيب محاصيل الخضر (13، 14، 15، 21). وقد يعود السبب في ذلك لطبيعة أمراض المحاصيل الحقلية المعقدة (22)، وإلى المساحة الواسعة التي تزرع بها هذه المحاصيل، لذا توزعت جهود الباحثين بين التحري عن عوامل مكافحة إحيائية فعالة بالكشف عن قدراتها التضادية تحت ظروف المختبر (10، 21)، ومعاملة البذور تجاوزاً لمحدودية اللقاح المطلوب لمعاملة

المساحات الواسعة. إن استخدام عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ذات قدرة تضادية عالية ومتمثلة للظروف البيئية الحقلية يعد من أهم مستلزمات نجاح برامج مكافحة الإحيائية (15). فقد وجد سابقاً أن أعلى نشاط تضادي لمزارع الفطر *T. harzianum* (Rafi) كان من مزارع عمرها سبعة أيام (12). كما وجد أن غازي أول اوكسيد الكربون والاثانول هما من بين الغازات التي تنتجها مزارع سلالات الفطر *T. harzianum* التي تعمل على تثبيط نمو الفطريات في المختبر (18، 19). كما وجد أن الفطر *T. harzianum* قد تثبط نمو الفطر

*M. phaseolina* على الوسط الزرعي المعقم آجار- دكستروز- مستخلص البطاطس وإنه كان فعالاً في الحد من إصابة بادرات اليوكالبتوس بمرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *M. phaseolina* وبعض الفطريات الأخرى المرافقة (5). ومن بين 8 عزلات من الفطر *Aspergillus spp.* وعزلة واحدة من الفطر *Cladosporium sp.* وعزلة واحدة من الفطر *Pythium sp.* وعزلتين من الفطر *Trichoderma spp.* عزلت من حقول مزروعة بمحصول السمسم أظهرت نباتاتها نسبة إصابة بمرض الذبول، وجد أن عزلتين من الفطر *Aspergillus spp.* وعزلتين من الفطر *Trichoderma spp.* فقط كانت ذات تأثير تثبيطي لنمو وإنتاج الأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina* على السمسم (20). كما وجد أن أنواع الفطريات *T. harzianum* و *Epicoccum purpurascens* (*E. nigrum*) و *T. viride*، أظهرت تضاداً للفطر *M. phaseolina* (25). لذا هدفت هذه الدراسة إلى تقييم 34 عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* لاستخدامها كعوامل للمكافحة الإحيائية لمسبب مرض تعفن السمسم الفحمي المتسبب عن الفطر *M. phaseolina*.

### مواد البحث وطرائقه

#### 1. عزلات الفطر *M. phaseolina*

عزل الفطر *M. phaseolina* من جذور وسوق النباتات التالية: السمسم، القطن، فول الصويا، زهرة الشمس، الباميا، الماش والذرة، وذلك من مناطق أبي غريب، التويثة، الزعفرانية، الخالصة، المدائن، التاجي وجسر ديالى الواقعة في محافظة بغداد، على التوالي. وتتلخص طريقة العزل بتعقيم قطع صغيرة (3-4 مم) من جذور وسوق كل

العشوائي الكامل (Complete Randomized Design)، واتبع في تجارب البيت الزجاجي تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (Randomized Complete Block Design). استخدمت في جميع اختبارات البيت الزجاجي تربة رملية مزيجية (83.4% رمل و15.1% غرين و30% طين) تم تحليلها حسب طريقة Black (11) مع بيتموس بنسبة 2:1 معقمة مرتين عند درجة حرارة 121 س وضغط 1.5 كغ/سم<sup>2</sup> لمدة 1.5 ساعة.

#### 4. اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M. phaseolina* تحت

##### ظروف البيت الزجاجي

لوئت تربة معقمة مجهزة في أصص بلاستيكية (سعة 2 كغ) بلقاح سبع عزلات من الفطر *M. phaseolina* النامي على وسط جريش كوالح الذرة بواقع 1 غرام لقاح/ كغ تربة لكل أصيص. كررت كل معاملة ثلاث مرات وتركت ثلاث أصص دون تلقيح كشاهد. سقيت الأصص بعد التلوين وتركت لمدة يومين داخل البيت الزجاجي عند درجة حرارة 27±3 س. زرعت بذور السمسم (10 بذور/ أصيص) صنف "الرافدين" بعد تعقيمها سطحياً باستخدام محلول 1% هيبوكلوريد الصوديوم، بعد أسبوع من إنبات البادرات سجلت بيانات النباتات المصابة بالفطر قبل وبعد الإنبات.

#### 5. اختبار التضاد بين عزلات مختلفة من الفطر *Trichoderma*

##### spp. وعزلة الفطر *M. phaseolina* عالية الامراضية

استخدمت طريقة الزرع المزدوج بوضع قرص قطره 4 مم من عزلة عالية الامراضية للفطر *M. phaseolina* (عزلة السمسم) وعزلات الفطر *Trichoderma* spp. على طرفي أحد أقطار طبق بتري قطره 9 سم مجهز بالوسط الزراعي (أجار- سكروز- مستخلص البطاطس) وبواقع ثلاث مكررات لكل عزلة. حضنت بعد ذلك الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 28±2 س، ثم سجل معدل النمو اليومي لكل عزلة وحسبت درجة التضاد حسب تدرج Bell وآخرون (10) المكون من 5 درجات (1-5) حيث 1= الفطر المضاد يغطي الطبقة بكامله، 2= الفطر المضاد يغطي 4/3 مساحة الطبقة، 3= الفطر المضاد والفطر الممرض كل منهما يغطي نصف مساحة الطبقة، 4= الفطر الممرض يغطي 4/3 مساحة الطبقة، 5= الفطر الممرض يغطي الطبقة بكامله.

اعتبرت عزلة الفطر التي تظهر درجة تضاد 2 أو أقل ذات قدرة تضادية عالية، كما تم حساب النسبة المئوية للأجسام الحجرية المتضررة في منطقتين مختلفتين هما منطقة التماس بين الفطرين و 2 سم بعد منطقة التماس. وذلك بأخذ مسحة باستخدام شريط لاصق شفاف ولصقها على شريحة زجاجية وفحصها تحت المجهر، حيث حسبت النسبة المئوية للأجسام الحجرية المتضررة للفطر *M. phaseolina* من مجموع عدد الأجسام الحجرية الكلي في حقل

نموذج سطحياً (2-3 دقيقة) بهيبوكلوريد الصوديوم (1%)، ثم غسلها ثلاث مرات بالماء المعقم وتجفيفها على ورق ترشيح معقم وزرعها في أطباق بتري قطر 9 سم مجهزة بالوسط الزراعي (أجار- سكروز- مستخلص البطاطس/البطاطا (200:10:20)/ ليتر ماء (PDA). حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28±2 س، وبعد 3-5 أيام تم تنقية العزلات بنقل جزء قليل من حافات النوات الفطرية الخارجية للمستعمرة إلى أطباق مجهزة بالوسط (أجار- سكروز- مستخلص البطاطس)، شخضت العزلات وفق المفتاح التصنيفي المعتمد (16) وحفظت عند درجة حرارة 4 س لحين الاستعمال.

#### 2. عزلات الفطر *Trichoderma* spp.

استعملت في هذه الدراسة 34 عزلة مختلفة من الفطر *Trichoderma* spp. تم الحصول على 10 عزلات من قسم المبيدات الاحيائية - دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية وثلاث عزلات من قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد وعزلة واحدة من الهيئة العامة للبحوث الزراعية - وزارة الزراعة. في حين تم عزل 20 عزلة في هذه الدراسة من حقول زراعية مختلفة من العراق أظهرت نباتاتها صفة النمو الجيد باستخدام طريقة المحاليل المخففة لعينات من تربة جمعت عشوائياً من منطقة الجذور. نقيت العزلات المستخدمة في الدراسة بالطريقة الموصوفة سابقاً من قبل الخفاجي (1) وأعطيت الرموز من T1، T2، ..... إلى T34.

#### 3. الأوساط الزراعية

استخدم الوسط الزراعي (أجار-سكروز-مستخلص البطاطس) درجة حموضة 5.8 لتنمية الفطرين *M. phaseolina* و *Trichoderma* spp. واستخدم وسط زرع بسيط مكون من نخالة القمح وجريش كوالح الذرة والماء (3: 7: 7 وزن/ وزن/ حجم) (1) في قناني زجاجية (50 غرام/ قنينة) لإكثار لقاح عزلات المسبب المرضي وعزلات الفطر *Trichoderma* spp. بعد تعقيم الوسط الزراعي عند درجة حرارة 121 س وضغط 1.5 كغ/سم<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة، لفحت بأقرص قطرها 4 مم من مزارع عزلات الفطر بعد أسبوع من عملية الزراعة على الوسط الزراعي (أجار-سكروز-مستخلص البطاطس). ثم حضنت القناني عند درجة حرارة 28 س لمدة 5 أيام لتصبح جاهزة للاستعمال. استعمل لقاح الفطرين *M. phaseolina* و *Trichoderma* spp. بواقع 1 غرام/ كغ تربة في تجارب البيت الزجاجي، يحتوي الغرام الواحد من لقاح الفطر *Trichoderma* على 10<sup>8</sup> وحدة مكونة للمستعمرة/1 غ من اللقاح.

استخدم في جميع اختبارات هذه الدراسة بذور سمسم (*Sesamum indicum* L.) صنف "الرافدين"، تم الحصول عليه من قسم تربية وتحسين النبات، دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية، منظمة الطاقة الذرية العراقية. اتبع في التجارب المختبرية التصميم

**جدول 1.** القدرة الامراضية لعزلات الفطر *Macrophomina phaseolina* في إصابة السمسم *L. Sesamum indicum* صنف "الرافدين" تحت ظروف البيت الزجاجي.

**Table 1.** Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* isolates on sesame plant (cv. Al- Rafidin) under greenhouse conditions.

معدل عدد النباتات المصابة*		عزلات الفطر <i>M. phaseolina</i> Isolates of <i>M. phaseolina</i>
Mean no. of infected plants at*	عزلات الفطر	
بعد الإنبات*** Post-emergence***	قبل الإنبات** Pre-emergence**	
0.00	0.00	الشاهد Control
6.70	3.30	عزلة السمسم Sesame isolate
6.33	3.33	عزلة الماش Mungbean isolate
6.00	3.00	عزلة القطن Cotton isolate
6.00	3.00	عزلة الذرة Corn isolate
4.33	3.00	عزلة فول الصويا Soybean isolate
5.66	1.66	عزلة زهرة الشمس Sunflower isolate
4.00	2.33	عزلة الباميا Okra isolate
2.27	2.02	اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5 % LSD at P= 5%

\* معدل ثلاث مكررات.  
\*\* معدل عدد النباتات المصابة قبل الإنبات = معدل عدد النباتات النابتة في معاملة الشاهد - معدل عدد النباتات النابتة في المعاملة.  
\*\*\* معدل عدد النباتات المصابة بعد الإنبات = معدل عدد النباتات النابتة في معاملة الشاهد - معدل عدد النباتات المصابة في تلك المعاملة.  
\* Mean of three replicates  
\*\* Mean no. of infected plants at pre-emergence = mean no. of germinating plants in control - mean no. of emergence plants in treatment.  
\*\*\* Mean no. of infected plants at post-emergence = mean no. of germinating plants in control - mean no. of infected plants in the same treatment.

إن نتائج هذه الدراسة تشابه نتائج دراسات سابقة أشارت إلى أن أخفاق بذور السمسم في الإنبات هو نتيجة إصابتها بالفطر *M. phaseolina* قبل الإنبات (3، 8). ومن جهة أخرى تتفق هذه النتائج مع دراسة سابقة أشارت إلى قلة خطورة الفطر *M. phaseolina* في مرحلة قبل الإنبات في زهرة الشمس، لكنه يصبح أكثر خطورة في مرحلة ما بعد الإنبات والمراحل المتأخرة من النمو (9). كما أظهرت نتائج القدرة الامراضية لعزلات السمسم، الماش، القطن والذرة قدرة إمراضية عالية في إصابة محصول السمسم لم تختلف معنوياً فيما بينها في معدل عدد النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات، وهذه النتيجة لا تتفق كلياً مع دراسات سابقة (3، 6، 7، 9) التي أشارت إلى أن عزلة الفطر *M. phaseolina* المعزولة من العائل هي الأكثر إمراضية على ذلك العائل. فقد حققت عزلات الماش، القطن والذرة معدل عدد نباتات مصابة مقداره 9.7، 9.0 و 9.0، على التوالي، ولم تختلف معنوياً

مجهرى على قوة التكبير 400X وحسب الدليل المرضي المكون من أربعة درجات (0-3) حيث 0= سليمة، 1= إصابة طفيفة (1-30%)، 2= إصابة متوسطة (31-50%)، 3= إصابة شديدة (51-100%)، وحسب شدة الإصابة وفق المعادلة التالية:

$$\text{شدة الإصابة (\%)} = \frac{\text{مجموع [(عدد الأجسام الحجرية المصابة) \times (\text{درجة إصابتها})]}{\text{عدد الأجسام الحجرية الكلي المفحوص} \times 3} \times 100$$

## 6. دراسة القدرة التضادية لعزلات الفطر *Trichoderma spp.* والفطر *M. phaseolina* (عزلة السمسم) في البيت الزجاجي

لوثت تربة معقمة مجهزة في أصص بلاستيكية (سعة 2 كغ تربة) بالفطر *M. phaseolina* بواقع 1 غرام/ كغ تربة من الفطر. وزعت الأصص في البيت الزجاجي، وبعد يومين لوثت كل ثلاث أصص بلقاح أحد العزلات الأربع والثلاثين من الفطر *Trichoderma spp.* بواقع 1 غرام/ كغ تربة وتركت مجموعة من الأصص دون إضافة فطر *Trichoderma* كمعاملات شاهد بوجود أو عدم وجود المسبب المرضي. وبعد يومين زرع صنف "الرافدين" (10 بذور سمسم/ أصيص)، بواقع ثلاث مكررات لكل عزلة فضلاً عن معاملي الشاهد. وبعد أسبوع من الزراعة حسبت النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات. حصلت بعدها البادرات إلى ثلاث نباتات لكل أصيص لحساب شدة الإصابة لتلك النباتات في كل عزلة حسب الدليل المرضي الموصوف من قبل Woltz و Arthur (26) المكون من ستة درجات (0-5)، حيث 0= نباتات سليمة، 1= اصفرار مميز، 2= ذبول 3/1 الأوراق، 3= ذبول 3/2 الأوراق، 4= ذبول النبات بالكامل، 5= موت النبات. وحسب المعادلة الآتية:

$$\text{شدة الإصابة (\%)} = \frac{\text{مجموع}[(\text{عدد النباتات من الدرجة } 0) \times 0 + \dots + (\text{عدد النباتات من الدرجة } 5) \times 5]}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times \text{أعلى درجة}} \times 100$$

## النتائج والمناقشة

### 1. اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M. phaseolina* تحت ظروف البيت الزجاجي

أظهرت نتائج تقييم القابلية الامراضية لسبعة عزلات من الفطر *M. phaseolina* أن جميع العزلات المختبرة أحدثت زيادة معنوية (P=0.05) في معدل عدد نباتات السمسم المصابة قبل وبعد الإنبات مقارنة بمعاملة الشاهد (بدون مسبب مرضي)، إلا أنها اختلفت معنوياً فيما بينها في القدرة الامراضية (جدول 1)، فقد حققت عزلة السمسم أعلى معدل في عدد النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات وتوقفت معنوياً على عزلات فول الصويا، زهرة الشمس، الباميا. كما أظهرت النتائج أن عدد النباتات المصابة بعد الإنبات قد إزداد مقارنة بأعداد النباتات المصابة قبل الإنبات ولجميع العزلات (جدول 1).

مصابة، إذ لا يستوجب في مثل هذه الحالة وقوع تماس مباشر بين عامل مكافحة الاحيائية الموجود في التربة والمسببات المرضية الموجودة داخل أنسجة العائل. أن التحقق من هذا الاستنتاج وأهميته التطبيقية بحاجة لدراسات لاحقة.

**جدول 2.** القدرة التضادية لـ 34 عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ضد الفطر *Macrophomina phaseolina*.

**Table 2.** Antagonistic potential of 34 isolates of *Trichoderma spp.* against *Macrophomina phaseolina*.

شدة إصابة الأجسام الحجرية بعد 6 أيام Sclerotia infection severity after 6 days		درجة التضاد بعد 5 أيام*	عزلات الفطر <i>Trichoderma spp.</i> Isolates of <i>Trichoderma spp.</i>
المتأثرة على بعد 2 سم من منطقة التماس Affected at 2 cm from contact site	المصابة في منطقة التماس Infected at contact site	Degree of antagonism after 5 days*	
0.13	0.97	2.6	1
0.01	0.97	3.4	2
0.02	0.93	2.9	3
0.05	0.81	2.9	4
0.08	0.95	1.8	5
0.04	0.90	1.8	6
0.20	0.93	2.3	7
0.05	0.95	1.7	8
0.09	0.97	1.8	9
0.04	0.92	1.8	10
0.02	0.78	1.8	11
0.09	0.96	1.1	12
0.01	0.82	2.9	13
0.03	0.86	3.7	14
0.02	0.71	1.3	15
0.14	0.93	3.4	16
0.15	0.99	2.6	17
0.21	0.99	3.8	18
0.26	1.00	3.6	19
0.27	1.00	2.4	20
0.26	0.99	1.1	21
0.03	0.66	1.2	22
0.14	0.99	1.8	23
0.23	1.00	4.0	24
0.02	0.73	2.4	25
0.03	0.82	2.4	26
0.04	0.89	1.6	27
0.07	0.88	1.4	28
0.03	0.84	1.5	29
0.02	0.93	3.9	30
0.06	0.99	3.8	31
0.03	0.90	3.0	32
0.03	0.82	2.4	33
0.08	0.94	3.1	34

\* حسب مقياس Bell (10) المكون من 5 درجات هي: 1= الفطر المضاد يغطي الطبق كله، 2= الفطر المضاد يغطي 3/4 مساحة الطبق، 3= الفطر المضاد والفطر الممرض يغطي كل منهما نصف مساحة الطبق، 4= الفطر الممرض يغطي 4/3 مساحة الطبق، 5= الفطر الممرض يغطي الطبق كله.

\*According to Bell scale (10) of five categories: 1= The antagonistic fungus completely covered the plate area, 2= The antagonistic fungus covered 3/4 of the plate area, 3= Each of the antagonistic fungus and the pathogen covered 1/2 of the plate area, 4= The pathogen covered 3/4 of the plate, 5= The pathogen completely covered the plate area.

(P=0.05) عن عدد النباتات المصابة في حالة عزلة السمسم التي حققت إصابة 10 نباتات. وجاءت هذه النتائج متوافقة مع دراسة سابقة أشارت إلى عدم وجود تخصص في عزلات الفطر *M. phaseolina* المعزولة من محاصيل فول الصويا والقطن في إصابة عوائلها النباتية، رغم تسجيل مثل هذا التخصص في عزلة الفطر *M. phaseolina* من محصول الذرة. أن الاختلاف في القدرة الامراضية للعزلات في هذه الدراسة ربما يعود إلى اختلاف هذه العزلات في قدرتها على إنتاج السموم الفطرية. فقد وجد أن عزلات الفطر *M. phaseolina* غير المنتج للسم الفطري Phaseolinon هي أقل قدرة إمراضية من العزلات المنتجة لهذا السم (24)، وعلى الرغم من أن عزلة السمسم لم تحقق توفراً معنوياً على عزلات الماش، القطن والذرة في القدرة الامراضية إلا أنها اختيرت للاختبارات اللاحقة في هذه الدراسة لأنها عزلت من محصول السمسم وهو العائل الهدف في هذه الدراسة.

## 2. اختبار التضاد بين الفطر *M. phaseolina* وعزلات مختلفة من

### الفطر *Trichoderma spp.*

أظهرت نتائج اختبار القدرة التضادية لـ 34 عزلة من الفطر *Trichoderma spp.* ضد الفطر *M. phaseolina* في المختبر تباين العزلات في نشاطها التضادي (جدول 2). واعتماداً على مقياس Bell وآخرون (10) لقياس القدرة التضادية، فقد أظهرت 13 عزلة درجة تضاد ما بين 1.1-1.8 بعد 5 أيام من الزراعة (جدول 2). وهذه العزلات مرشحة للاستخدام كعوامل مكافحة إحيائية ناجحة. كما أوضحت نتائج الفحص المجهرى تطفل بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp.* على الغزل الفطري والأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina*، وهذه النتيجة تتفق مع دراسات سابقة (23، 27). كما أظهرت النتائج أن معظم العزلات التي أظهرت قدرة تضادية عالية تميل إلى التطفل من نوع (Biotrophic)، حيث أن لمثل هذه العزلات أهمية كعوامل للمكافحة الاحيائية، إذ أن زيادة لقاحها إلى هذا المستوى في التربة لا يؤدي إلى إحداث أضرار سمية للنبات العائل وهذا ما أكدته دراسة سابقة (1).

وأظهرت العزلات قدرة متباينة في إصابة الأجسام الحجرية ووجد بأن هناك عزلات لها قدرة على إصابة الأجسام الحجرية عند منطقة التماس وعلى بعد 2 سم من منطقة التماس مثل العزلات 19، 20، 21، 24 (جدول 2). إن قدرة العزلات في التأثير على الأجسام الحجرية على بعد 2 سم من منطقة التماس، ربما يعود إلى إفراز مواد ابيضية متطايرة من مزارع عزلات الفطر *Trichoderma spp.* وهذا ما أكدته دراسات عديدة والتي أشارت إلى قدرة عزلات الفطر *Trichoderma spp.* على إنتاج مواد ابيضية متطايرة مثبطة لنمو الفطريات المدروسة (15، 18، 19). ومثل هذه العزلات يمكن أن تكون ذات أهمية تطبيقية في تأثيرها في مسببات مرضية مستوطنة للتربة في مناطق أبعد من منطقة التماس المباشر بينهما. وفضلاً عن أثرها الوقائي، يمكن أن يكون لها نشاط علاجي عند معاملة نباتات

### 3. دراسة القدرة التضادية بين عزلات الفطر *Trichoderma* spp.

#### والفطر *M. phaseolina* تحت ظروف البيت الزجاجي

أظهرت نتائج كفاءة 34 عزلة للفطر *Trichoderma* spp. في خفض إصابة السمسم بالفطر *M. phaseolina*، أن بعض العزلات المختبرة أحدثت خفضاً معنوياً ( $P=0.05$ ) في معدل عدد النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات مقارنة بمعاملة المسبب المرضي (جدول 3). على الرغم من أن بعض العزلات لم تظهر قدرة تضادية عالية في

اختبارات المختبر، فقد أظهرت قدرة تضادية عالية في هذا الاختبار. ففي الوقت الذي أظهرت العزلتين 19 و 14 قدرة تضادية منخفضة في اختبارات المختبر (3.6 و 3.7 درجة تضاد) (جدول 2)، حققت تحت ظروف البيت الزجاجي خفضاً معنوياً في معدل عدد النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات بلغ 5.3 و 6.0 نبات، على التوالي، مقارنة بمعاملة المسبب المرضي 7.3 (جدول 3).

**جدول 3.** كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp. في خفض شدة الإصابة بمرض تعفن البذور ولفحة بادرات السمسم المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* تحت ظروف البيت الزجاجي.

**Table 3.** The efficiency of *Trichoderma* spp. isolates in reducing sesame seed rot and seedling blight caused by *Macrophomina phaseolina* under greenhouse conditions

Disease severity* معدل شدة الإصابة*				Mean no. of infected plants at معدل عدد النباتات المصابة		عزلات الفطر <i>Trichoderma</i> spp. Isolates of <i>Trichoderma</i> spp. الشاهد (بدون تلوين) Control (without inoculation) الشاهد (تلويث اصطناعي) Control (artificial inoculation)
الفترة بعد عملية تخصيل النباتات Time after plant thinning				بعد الإنبات (ثلاثة أسابيع بعد الزراعة) Post- emergence (3 weeks after sowing)	قبل الإنبات (أسبوع بعد الزراعة) Pre-emergence (one week after sowing)	
5 أسابيع Five weeks	4 أسابيع Four weeks	أسبوعين Two weeks	أسبوع One week			
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
1.00	1.00	0.98	0.78	4.00	3.33	
0.44	0.44	0.42	0.11	4.00	2.00	1
1.00	0.93	0.69	0.35	4.70	2.30	2
0.55	0.44	0.22	0.13	4.66	1.00	3
0.44	0.44	0.26	0.18	3.33	2.33	4
1.00	0.95	0.73	0.46	4.00	3.00	5
1.00	0.95	0.68	0.44	3.70	2.30	6
0.88	0.73	0.38	0.20	3.33	3.33	7
1.00	0.98	0.75	0.37	4.00	2.00	8
0.77	0.66	0.48	0.20	4.00	1.00	9
1.00	0.95	0.79	0.59	3.66	3.00	10
0.66	0.58	0.38	0.14	4.33	1.66	11
0.44	0.39	0.31	0.13	3.33	2.66	12
0.55	0.53	0.53	0.33	3.66	2.66	13
0.33	0.24	0.18	0.13	4.30	1.70	14
1.00	0.98	0.73	0.55	3.70	2.30	15
0.89	0.89	0.84	0.71	4.00	3.00	16
0.33	0.33	0.29	0.11	4.70	2.30	17
1.00	0.98	0.75	0.29	4.00	2.66	18
0.89	0.89	0.75	0.24	3.33	2.00	19
0.33	0.33	0.31	0.18	3.66	3.00	20
0.29	0.22	0.11	0.07	3.00	1.33	21
0.31	0.26	0.11	0.07	3.00	1.00	22
0.66	0.62	0.44	0.29	3.33	3.00	23
0.89	0.87	0.75	0.51	4.00	2.33	24
0.55	0.44	0.18	0.00	4.66	2.00	25
0.33	0.33	0.29	0.11	4.33	2.66	26
0.77	0.77	0.73	0.59	4.00	2.33	27
0.67	0.55	0.35	0.18	3.70	2.30	28
0.44	0.26	0.11	0.07	3.33	1.66	29
1.00	0.93	0.66	0.39	3.66	3.00	30
1.00	0.98	0.86	0.53	3.66	3.33	31
0.44	0.44	0.38	0.26	4.00	3.00	32
0.44	0.44	0.37	0.24	4.00	2.66	33
0.53	0.39	0.18	0.07	3.70	3.30	34
0.45	0.46	0.48	0.39	1.18	1.15	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P =5%

\* دليل الإصابة حسب Woltz و Arthur (26)، حيث: 0= نباتات سليمة، 1= اصفرار مميز، 2= ذبول 1/3 الأوراق، 3= ذبول 2/3 الأوراق، 4= ذبول النبات بالكامل، 5= موت النباتات.

\* Mean of three replicates of 0-5 scale according to Woltz and Arthur (26); where: 0= No symptoms as healthy plant, 1= Characteristic chlorosis, 2= Chlorosis + curvature of 1/3 leaves, 3= Chlorosis + curvature of 2/3 leaves, 4= Curvature of whole leaves, 5= Dead plants

*T. harzianum* و *T. viride* أعلى نشاط تضادي للفطر  
*M. phaseolina* المعزول من نباتات لوبيا مصابة بمرض التعفن  
الفحمي (25).

وعند تقييم قدرة العزلات المستخدمة في هذه الدراسة على خفض  
شدة الإصابة للنباتات الباقية بعد عملية التخلص (تقليل عدد النباتات  
من 10 نباتات إلى 3) (جدول 3)، فقد حققت أغلب العزلات خفضاً  
معنوياً (P=0.05) في شدة الإصابة بالفطر *M. phaseolina* بعد 1،  
2، 4، 5 أسبوع من عملية تخصيل النباتات. ففي الوقت الذي بلغت  
شدة الإصابة في معاملة المسبب المرضي 0.98 بعد الأسبوع الثاني  
من عملية التخلص لم ترتفع شدة الإصابة بالعزلات 14، 17، 20،  
21، 22، 26 و 29 على 0.2، 0.3، 0.3، 0.2، 0.3 و 0.3، 0.3  
على التوالي بعد 4 أسابيع من عملية التخلص.

أن نتائج هذه الدراسة تؤكد أن تقانة الزرع المزدوج لا تعكس جميع  
الآليات التي تعمل بها عزلات الفطر *Trichoderma* spp. لاسيما  
آليات استحاثات المقاومة في النباتات، والتي أثبتت الدراسات الحديثة  
أنها أحدى الفعاليات الاحيائية المهمة في كبح الإصابة بالمسببات  
المرضية الفطرية والتي ثبت قدرة بعض عزلات الفطر  
*Trichoderma* spp. على تنشيطها (4، 15، 17). وسجلت العزلات  
3، 4، 9، 19، 21، 22 و 29 أعلى خفض في معدل عدد النباتات  
المصابة قبل وبعد الإنبات 5.6، 5.6، 5.0، 5.3، 4.3 و 4.0 و 5.0  
نبات، على التوالي مقارنة بمعاملة المسبب المرضي التي بلغ فيها عدد  
النباتات المصابة قبل وبعد الإنبات 7.33 نبات. أن تباين الكفاءة  
الاحيائية لعزلات الفطر *Trichoderma* spp. ربما يعود إلى تباين  
آليات التضاد المحددة للنشاط الاحيائي للعزلات المستخدمة. فقد وجد أن  
من بين خمسة أنواع من الفطر *Trichoderma* spp. سجل الفطرين

## Abstract

Hafedh, H. Z. A., H. M. Aboud, F. A. Fattah and S. A. Khlaywi. 2005. Evaluation the antagonistic efficiency of thirty four isolates of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina* under laboratory and greenhouse conditions. Arab J. Pl. Prot. 23: 44-50.

The result of antagonistic activity of thirty four isolates of *Trichoderma* spp. against a highly virulent isolate of *Macrophomina phaseolina* using dual culture technique showed that isolates no. 12, 21, 22 15, 28, 29, 27, 8, 9, 5, 6, 10, 11 and 23 were of a high antagonistic activity of 1.1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.8, 1.8, 1.8 and 1.8, respectively, based on an antagonistic scale of 1-5. Under greenhouse conditions, the tested isolates T21 and T22 were found to be highly effective in inducing significant reduction in sesame charcoal rot disease severity of 0.29 and 0.31, respectively, compared to untreated control treatment (1.0), 5 weeks after planting. Isolates (T.21 and T.22) were identified as *T. pseudokoningii* (Rafi), and *T. viride* (Rafi) respectively.

**Key words:** Charcoal rot, sesame, biological control, Iraq.

**Corresponding author:** H.Z.A. Hafedh, Ministry of Science and Technology, P.O. Box 765, Baghdad, Iraq.

## References

- المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. مجلة البحوث الزراعية العربية، 5(2): 222-233.
7. **فياض، محمد عامر.** 1997. استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. للإصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. دور بعض الطرق الاحيائية في المقاومة. أطروحة دكتوراة، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. الصفحات 1-91.
8. **Abdou, Y.A., S.A. EL-Hassan and H.K. Abbas.** 1979. Seed transmission and pycnidial formation in sesame wilt disease caused by *Macrophomina phaseoli* (Maubl) Ashby. Agriculture Research Review, 57(2): 63-69.
9. **Ahmed, K.G.M., S.I.A. El-Said, R.N. Fawzy, A.E. Badr and M.A. Abd-Allah.** 1994. Pathological study on sunflower plant, chemical and biological control and seed oil content. Annals of Agricultural Science. Moshtohor, 32(3): 1529-1543.
10. **Bell, D.K., H.D. Wells and C.R. Markham.** 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72: 379-382.
11. **Black, C.A.** 1965. Methods of Soil Analysis par (1) American Society Agronomy, Inc. United States America. 770 pp.
12. **Dennis, C. and J. Webster.** 1971. Antagonistic of *Trichoderma* spp. the production of volatile antibiotics. Transaction of the British Mycological Society, 57: 41-48.

## المراجع

1. **الخفاجي، هادي مهدي عبود.** 1985. دراسة بايولوجية ووقائية للفطر *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz. المسبب المرضي لسقوط بادرات الخيار في البيوت الزجاجية والبيلاستيكية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. الصفحات 1-78.
2. **الزميتي، محمد السعيد صالح.** 1997. مكافحة المتكاملة للآفات الزراعية. الطبعة الأولى. دار الفجر للنشر والتوزيع، الجيزة، مصر. الصفحات 9-11.
3. **العاني، ناهدة مهدي صالح.** 1988. دراسات مورفولوجية وفسولوجية عن الفطر *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. الصفحات 1-79.
4. **سعد، نجات عدنان.** 2001. التداخل بين ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* والفطر *Rhizoctonia solani* في الباذنجان ومقاومته احيائياً. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. الصفحات 1-87.
5. **طه، خالد حسن، خالدة عبد الجواد ووليد عبد الجبار عثمان.** 1987. تشخيص الفطريات المسببة لموت بادرات اليوكالبتوس في محافظة نينوى ومقاومتها كيميائياً وحيوياً. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 5: 225-232.
6. **عبود، هادي مهدي، خضير محمد وهيب، حمود مهدي صالح، فالح حسن سعيد وأحمد موسى حيدر.** 2001. تقييم مقاومة متغايرات وراثية من السمسم للإصابة بمرض التعفن الفحمي

22. **Mihail, J.D.** 1989. *Macrophomina phaseolina*: Spatio-Temporal dynamics of inoculum and of disease in a highly susceptible crop. *Phytopathology*, 79: 848-855.
23. **Sharma, R.C. and T.P. Bhowmik.** 1983. Sclerotial population of *Macrophomina phaseolina* in field soil under tropical climate and the effects of inorganic amendment and soil antagonists on the viability. Page 254. (Cited from) Sinclair, J. B. 1984. Root and stalk rot caused by *Macrophomina phaseolina* in legumes and other crops proceedings of the consultative group discussion on research needs and strategies for control of sorghum root and rot disease. 27Nov- 2Dec. India ICRI SAT.
24. **Suchandra, S., K.M. Santosh and K.A.I. Siddiqui.** 2000. Avirulent mutants of *Macrophomina phaseolina* and *Aspergillus fumigatus* initiate infection in *Phaseolus mungo* in the presence of phaseolinone; levamisole gives protection. *Journal Bioscience*, 25(1):73-80.
25. **Ushamalni, C., K. Rajappan and K. Gangadharan.** 1997. Management of charcoal rot of cowpea using biocontrol agents and plant products. *Indian Phytopathology*, 50(4): 504-507.
26. **Woltz, S.S. and W.E. Arthur.** 1973. *Fusarium* wilt of chrysanthemum, effect of nitrogen source and lime on disease development. *Phytopathology*, 63 (1): 155-157.
27. **Ziedan, E.H.E.** 1998. Integrated control of wilt and root rot disease of in Arabic Republic of Egypt. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University. 169 pp.
13. **Elad, Y., J. Katan and I. Chet.** 1980. Physical biological, and chemical control integrated for soil borne disease in potatoes. *Phytopathology*, 70: 418-422.
14. **Hadar, Y., I. Chet and Y. Henis.** 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 69: 64-68.
15. **Harman, G.E.** 2000. Myths and dogmas of biocontrol. *Plant Disease*, 84(4): 377-393.
16. **Holliday, P. and E. Punithalingam.** 1970. *Macrophomina phaseolina*. C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. 275 pp.
17. **Howell, C.R., L.E. Hanson, R.D. Stipanovic and L.S. Puckhaber.** 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology*, 90: 248-252.
18. **Hutchinson, S.A.** 1971. Biological activity of volatile fungal metabolites. *Transaction of the British Mycological Society*, 57(2): 185-200.
19. **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.
20. **Juan, B., P.Y. Pineda, R. Ercilia and E. Gonnella.** 1988. Evaluation Del control biologico de *Macrophomina phaseolina* En Ajonjoli (*Sesamum indicum* L.). *Agronomea Tropical.*, 38(4-6): 79-84.
21. **Lorito, M., G.E. Harman, C.K. Hayes, R.M. Broadway, A. Tronsmo, S.L. Woo and A. DiPietro.** 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum* antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology*, 83 (3): 302-307.

Received: October 25, 2002; Accepted: November 11, 2004

تاريخ الاستلام: 2002/10/25؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2004/11/11