تأثير المستخلص المائي لنبات الريحان والمقاوم الحيوي الفطري *Trichoderma harzianum* على الفطريات المسببة لموت بادرات الباميا

نجوى بشير اللشي
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

عصام داود سليمان
قسم علوم الحياة
كلية التربية
جامعة الموصل

انفال مؤيد جلال الدين
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 27/ 4 / 2009 ؛ تاريخ القبول 28/6 / 2009)

الملخص

تضمنت الدراسة معرفة تأثير المستخلص المائي لاوراق الريحان *Ocimum basilicum* وراشح المقاوم الحيوي *Trichoderma harzianum* على نمو الغزل الفطري للفطريات المسببة لموت بادرات الباميا *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina* و *Fusarium solani*. ادت معاملات المستخلص المائي للريحان بجميع تراكيزه (30,25,20,15,10,5,0)ملغم/مل الى خفض معنوي في نمو الفطريات الممرضة وازدادت نسب التثبيط بزيادة التركيز من 5% الى 30% اذ ثبط الاخير نمو الفطرين *R. solani* و *M. phaseolina* بنسبة 100% و *F. solani* 97.04%. وكان لتراكيز المستخلص المائي نفس التأثير على الوزن الجاف للفطريات الممرضة اذ احدثت تثبيطاً للفطرين *R. solani* و *M. phaseolina* بنسبة 100%. احدثت اضافة راشح المقاوم الحيوي بتراكيزه الثلاثة 10 و 20 و 30% خفضا معنويا في نمو جميع الفطريات الممرضة وازداد التثبيط بزيادة تركيز المستخلص الى 30% وكان اكثر الفطريات تثبيطا *M. phaseolina* و *F. solani* وبنسب 98.16 و 96.48% على التوالي، وقد لوحظ نفس التأثير لتراكيز الراشح على الوزن الجاف للفطريات الممرضة.

اظهر التداخل المشترك للمستخلص المائي وراشح المقاوم الحيوي *T. harzianum* تأثيراً مثبطاً قوي الفاعلية بالمقارنة مع المعاملات المنفردة في تثبيط نمو جميع الفطريات الممرضة وأوزانها الجافة اذ بلغ 100% عند التركيز 30%.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

The Effect of Water Extract of *Ocimum basilicum* and the Fungal Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum* on Fungi causing Damping-off of Okra

Najwa B. Al Lashi
Department of Biology
College of Science
Mosul University

Esam D. Sulaiman
Department of Biology
College of Education
Mosul University

Anfal M. Jalal
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The present study includes the effect of water extract of basil (*Ocimum basilicum*) leaves and culture filtrate of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* on the mycelial growth of damping-off fungi of Okra, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*. All tested concentrations (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/ml) of the aqueous extract of O. *basilicum* caused significant reduction on the linear growth of the pathogenic fungi and reaching 100%, at some concentrations. The inhibition increased with the increase in concentration of the extract from 5 to 30% for both *R. solani* and *M. phaseolina.* The inhibition reached 97.04% for *F. solani*.

All concentrations of the extract gave the same effect on the dry weight of pathogenic fungi and caused maximum inhibition (100%) to *R. solani* and *M. phaseolina*. Addition of three concentrations 10, 20 and 30% of culture filtrate of the biocontrol fungus caused significant decrease in the growth of fungi and the effect increased with the increase in concentration to 30%. Maximum inhibition was noticed with M. *phaseolina* and *F. solani* (98.16 and 96.48% respectively). Similar reduction inhibition on the dry weight of fungi, was recorded when various concentrations of the culture filtrate of the biocontrol fungus was added to the liquid media.

Combining the aqueous extract and culture filterate of *T. harzianum* showed more inhibitory efficiency on the growth of all pathogenic fungi and their dry weights as compared with individual treatments alone and reached 100% at concentration 30%.

المقدمة

نظرا للخسائر الناجمة عن اصابة النباتات بالممرضات وحدوث الطفرات لمقاومة المبيدات وتأثيرها المباشر على صحة الانسان والحيوان بالاضافة الى زيادة تكاليف هذه المواد من جهة والاثار الجانبية الضارة من جهة اخرى وكذلك اختلال التوازن البيئي نتيجة الاستخدام المفرط والعشوائي للمبيدات، كل هذا حفز الباحثين للاهتمام بوضع صيغة ستراتيجية فعالة للحد من المسببات الممرضة للنبات عن طريق استخدام البدائل الملائمة مثل المستخلصات النباتية (سرحان وسعدون ,2000) و(Al- Mougy and Mokhtar, 2007)، والاحياء الضارة (العميري، 2001؛ العبيدي، 2007) او العوامل الحيوية هذا فضلا عن الدراسات العديدة التي اشارت الى فاعلية مستخلصات بعض النباتات في مجال المقاومة الحيوية بدلا عن المبيدات الكيميائية حيث تستخدم مختلف النواتج النباتية

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

كالصموغ والزيوت والمواد الراتنجية لهذا الغرض (Daoud *et al.*, 1990). تمتلك المقاومة الحيوية لامراض النبات الحد الادنى من التأثيرات العكسية على العمليات الفسيولوجية في النباتات كما ان لها القليل من المخاطر البيئية بسبب تحول النواتج النهائية بسهولة الى مواد عضوية شائعة، وتعتبر المشاكل التي تنجم عن استخدامها اقل خطورة على صحة الانسان والحيوان مقارنة بالبدائل الصناعية (Isman,1989) و(سرحان، 2006)، ومن هذه النباتات المستخدمة نبات الريحان (Sweet basil) *Ocimum basilicum* الذي ينتمي للعائلة Lamiaceae وهو من الاعشاب المستخدمة في المطابخ وكنباتات زينة. تحتوي النباتات التي تعود الى هذه العائلة على خصائص صيدلانية مثل الزيوت الاروماتية التي تتكون في اوراقها وتستخدم كمضادات اكسدة كما تحتوي بذورها على مواد شبيهة بالمضادات الحيوية (Bais *et al.*,2002). تهدف الدراسة الى استخدام مستخلص اوراق الريحان كمركبات نباتية نشطة احيائيا بالاضافة الى راشح المقاوم الحيوي الفطري *Trichoderma harzianum* وتداخلهما معا ايضا في مقاومة الفطريات المسببة لموت بادرات الباميا.

المواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص المائي لنبات الريحان

تم غسل وتنظيف اوراق الريحان من الاتربة العالقة بها ثم جففت بالظل واتبعت طريقة Rios واخرون (1987) في تحضير المستخلص المائي اذ مزج 40 غم من النموذج النباتي مع 160 سم^3 من الماء المقطر المعقم (بنسبة 4:1 وزن:حجم) وسحق النموذج بوساطة المحرك الكهربائي مدة 60 دقيقة وذلك لتفجير جدران الخلايا النباتية ثم ترك في الثلاجة عند درجة 4°م لغرض النقع ولمدة 24 ساعة ورشح بعد ذلك من خلال عدة طبقات من الشاش واكمل الترشيح بوساطة قمع بخنر باستخدام اوراق ترشيح من نوع Whattman No.I تحت التفريغ وذلك للحصول على المستخلص النباتي الخام ثم اجرى له طرد مركزي لمدة 15 دقيقة بمعدل 6000 دورة/دقيقة. تم تجفيف المستخلص الناتج بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد Lyophilizer من نوع BETA الماني المنشأ بدرجة -50°م للحصول على مسحوق اوراق الريحان (السميري، 1999) وتم حفظ العينة في قنينة زجاجية ذات غطاء محكم تحت ظروف التجميد لحين الاستخدام.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للريحان في نمو الفطريات الممرضة

اجري اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لاوراق الريحان في نمو الفطريات الممرضة المسببة لموت بادرات الباميا والتي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة الموصل (العبيدي، 2007) باضافة احجام معينة من التركيز القياسي للمستخلص المعقم الى احجام محددة من الوسط الغذائي Potato Sucrose Agar قبل تصلبه وبعد مزجها جيدا تم الحصول على التراكيز 0، 5، 10، 15، 20، 25، 30 ملغم/مل ثم صبت في اطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم وبواقع ثلاث مكررات/فطر/تركيز. اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي لوحده دون اضافة المستخلص المائي وبعد تصلب الوسط اخذ قرص بقطر 5 ملم من الوسط المغطى بالخيوط الفطرية لكل واحد من الفطريات الممرضة وهي *Rhizctonia solani*، *Macrophomina phaseolina* و *Fusarium solani* بعمر اسبوع ووضع على الوسط بصورة مقلوبة بحيث تلامس النموات الفطرية سطح الوسط الغذائي، حضنت الاطباق عند درجة 27°م لمدة اسبوع بحسب نمو الفطريات الممرضة واخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية ومنها تم حساب نسب تثبيط الفطريات الممرضة حسب المعادلة التالية:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة} - \text{متوسط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

تأثير تراكيز من المستخلص المائي لاوراق الريحان على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

حضر وسط مستخلص البطاطا والسكروز Potato Sucrose Broth (PSB) ووزع في دوارق زجاجية حجم 250 مل ووضع في كل دورق 100 مل من راشح البطاطا والسكروز. عقمت بجهاز المعقام وبعد تبريدها اضيفت التراكيز التي تم تحضيرها مسبقا (0، 5، 10، 15، 20، 25، 30 ملغم/مل) من المستخلص المائي كما اضيف المضاد الحيوي كلورامفينيكول بمعدل 10 ملغم/لتر كمضاد بكتيري. اخذ قرص قطره 5 ملم من النموات الفطرية للفطريات الممرضة *R. solani* و *M. phaseolina* و *F. solani* والمنماة مسبقا على وسط PSA وبعمر اسبوع ثم وضع داخل الدوارق الحاوية على راشح البطاطا والسكروز والمستخلص المائي وبمعدل ثلاث دوارق/فطر/تركيز. اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي فقط. حضنت الدوارق في الحاضنة عند درجة حرارة 27°م±1 لمدة سبعة ايام وبعد انتهاء فترة التحضين سحبت الدوارق من الحاضنة وتم ترشيح الكتل الحيوية للفطريات باستخدام ورق ترشيح نوع Whattman No.2 وبعد الانتهاء من الترشيح وضعت الكتل الحيوية في فرن درجة حرارته 70°م ولمدة 48 ساعة. سجلت اوزان الكتل الحيوية للفطريات وتم استخراج نسب التثبيط حسب المعادلة المذكورة سابقا.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

اختبار القدرة التضادية للمقاوم الحيوي الفطري *Trichoderma harzianum*

اختبرت القدرة التضادية للمقاوم الحيوي ضد الفطريات الممرضة *R. solani* و *M. phaseolina* و *F. solani* عن طريق الزراعة المزدوجة لكل فطر من الفطريات الممرضة مع المقاوم الحيوي *T. harzianum* على الوسط الغذائي بقطر 5 ملم لكل فطر بشكل مقلوب بحيث يلامس الغزل الفطري سطح الوسط الغذائي مع قرص مماثل له من المقاوم الحيوي بحيث تكون المسافة الفاصلة بين القرصين (4 سم) تقريبا نفذت التجربة بواقع ثلاث مكررات/فطر ممرض مع المقاوم الحيوي وحضنت الاطباق على درجة 27°م لمدة 7 ايام بحسب نمو الفطريات الممرضة وقدرت درجة التضاد حسب سلم التقدير الخماسي الذي اعده Bell واخرون (1982) وذلك كما يأتي:

1- نموات الفطر المقاوم تغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو.
2- نموات الفطر المقاوم تغطي ثلثي مساحة الطبق ويغطي الفطر الممرض الثلث الباقي.
3- نموات الفطر المقاوم تغطي نصف مساحة الطبق ويغطي الفطر الممرض النصف الباقي مع عدم وجود منطقة فاصلة بين المستعمرتين.
4- نموات الفطر المقاوم تغطي ثلث مساحة الطبق في حين تغطي نموات الفطر الممرض الثلثين الاخرين.
5- الفطر المقاوم غير نامي وتغطي نموات الفطر الممرض كامل مساحة الطبق.

تحضير راشح المقاوم الحيوي الفطري *T. harzianum*

لدراسة تأثير السموم الفطرية المفرزة من قبل المقاوم الاحيائي على الفطريات الممرضة تم تحضير وسط مستخلص سكروز البطاطا (Potato Sucrose Broth) لغرض تنمية المقاوم الحيوي وزع الوسط في دوارق مخروطية حجم 250 مل حاوية على 100 مل من الوسط الغذائي عقمت الدوارق بالمعقام وبعد تبريده لقح الوسط في كل دورق بقرص قطره 5 ملم من النمو الفطري للمقاوم الحيوي المأخوذ من حافة مزرعة فطرية بعمر 7 ايام ومنماة على وسط PSA. حضنت الدوارق على درجة 27°م±1 ولمدة 15 يوماً ثم رشح الوسط باستخدام قماش الموسلين واجري له طرد مركزي باستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد على سرعة 1000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة وبدرجة حرارة 45°م لتسهيل انسياب الراشح خلال المرشح البكتيري (Millipore) بقطر 0.45 مايكروميتر لتعقيمه واستخدم الراشح المعقم بعد ذلك في الاختبار التالي.

تأثير تراكيز راشح المقاوم الحيوي *T. harzianum* في نمو الفطريات الممرضة

لدراسة تأثير راشح المقاوم الحيوي في نمو الفطريات الممرضة تم اضافة احجام معينة من راشح المقاوم الحيوي المعقم الى احجام محددة من الوسط الغذائي (PSA) المعقم قبل تصلبه وبعد مزجه جيدا تم الحصول على التراكيز 10، 20، 30 (ح/ح) ثم صبت في اطباق زجاجية قطر 9 سم وبواقع 3 مكررات/فطر/تركيز، اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي لوحده دون اضافة راشح المقاوم

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الحيوي وبعد تصلب الوسط اخذ قرص من النموات الفطرية بعمر اسبوع وبقطر 0.5 سم ووضع في مركز الطبق بصورة مقلوبة حضنت الاطباق عند درجة 27°م±1 لمدة اسبوع حسب نمو الفطريات الممرضة واخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية ومنها تم حساب النسبة المئوية للتثبيط حسب ما ذكر سابقا.

تأثير تراكيز مختلفة من راشح المقاوم الحيوي على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

حضر وسط مستخلص البطاطا والسكروز (PSB) ووزع في دوارق زجاجية حجم 250 مل ووضع في كل دورق 100 مل من راشح البطاطا والسكروز. عقمت بجهاز المعقام وبعد تبريدها اضيفت تراكيز من راشح المقاوم الحيوي 0، 10، 20، 30% (ح/ح) الى كل دورق وبمعدل ثلاث مكررات/فطر/تركيز ثم مزجت جيدا مع وسط راشح البطاطا والسكروز، اخذ قرص قطره 5 ملم من النموات الفطرية للفطريات الممرضة والمنماة مسبقا على وسط PSA وبعمر اسبوع ثم وضع داخل الدوارق الحاوية على راشح البطاطا والسكروز وراشح المقاوم الحيوي. اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي PSA فقط، حضنت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 27°م±1 ولمدة اسبوع وبعد انتهاء فترة التحضين سحبت الدوارق من الحاضنة وجرى ترشيح الكتل الحيوية للفطريات باستخدام ورق ترشيح نوع Whattman No.2 وبعد الانتهاء من الترشيح وضعت الكتل الحيوية للفطريات في فرن درجة حرارة 70°م ولمدة 48 ساعة. سجلت اوزان الكتل الحيوية للفطريات بميزان حساس وحسب الوزن الجاف للكتل وتم استخراج نسب التثبيط حسب المعادلة المذكورة سابقا.

التأثير المشترك (التأزري) لمستخلص اوراق الريحان وراشح المقاوم الحيوي *T. harzianum* في نمو الفطريات الممرضة.

اجري اختبار تأثير التراكيز 10، 20، 30% من المستخلص المائي لاوراق الريحان وراشح المقاوم الحيوي معاً باضافة احجام متساوية من كل منهما الى أحجام محددة من وسط PSA للحصول على التراكيز النهائية وبنفس الطريقة المذكورة سابقاً في الفقرة كما درس التأثير المشترك لهذه التراكيز في الوسط الجاف للفطريات الممرضة باتباع نفس الخطوات المذكورة سابقاً في الفقرة (3). حللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 0.05.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للريحان في نمو الفطريات الممرضة

يلاحظ من النتائج الواردة في جدول (1) ان التراكيز المختلفة للمستخلص المائي ادت الى تثبيط نمو جميع الفطريات الممرضة ولكن بنسب مختلفة نسبة للمقارنة وازدادت درجة التثبيط بزيادة تركيز المستخلص من 5%-30% ولم يختلف تأثير التركيزين 5 و 10% معنويا على الفطرين *M. phaseolina* و *F. solani* ولكن ازدادت النسبة المئوية لتثبيط الفطر *F. solani* اكثر من الفطر *M. phaseolina* عند التركيزين 15 و 20% اذ بلغت 36.67 و 60.38% على التوالي في حين كان *R.solani* اكثرها تثبيطا عند نفس التركيزين اذ بلغت نسب التثبيط 48.28 و 71.76% على التوالي ولم يختلف نمو الفطرين *R. solani* و *M. phaseolina* عن بعضهما معنويا في نسب التثبيط عند تركيز 30% اذ بلغ 100% يليهما الفطر *F. solani* (97.04%) وتتفق هذة النتائج مع ما توصل اليه (El – Mougy *et al*, 2007) من ان استخدام مستخلص اوراق الريحان ادى الى خفض نمو الغزل الفطري للفطريات المسببة لموت بادرات وتعفن جذور الباقلاء (*F. solani* و *R. solani* و *Alternaria solani* و *M. phaseolina*) بنسب 61 و 71.1 و 65.5 و 51.1% على التوالي عند استخدام 2% من مستخلص اوراق الريحان وادى التركيز 8% الى خفض في نمو الغزل الفطري بمقدار 75.5 و 100 و 85.5 و 83.3% نسبة للمقارنة، على الرغم من اختلاف نسب التثبيط التي ذكرها الباحثون عن تلك التي حصلنا عليها في هذه الدراسة وربما يعزى التاثير التثبيطي لمستخلص اوراق الريحان الى احتوائها على مادة Linallol. كما اشار Wenzhang واخرون, (2009) الى ان الزيت المستخلص من الاجزاء الهوائية من اوراق الريحان يحتوي على المواد الفعالة Linallol (29.68%)، Cinnamic acid methyl ester (21.49%) و Cyclohexene (44.41%)، a- Candiol (3.99%)، 3,5- Pyridine - dicarboxylic acid، Guain -1 (2.01%)، 11- Diene (10%)، Cadinene (1.41%)، Cinnamic acid methyl ester (1.36%) وكان لها تأثير معنوي مثبط لبعض الفطريات الممرضة للنبات.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الجدول 1: اقطار المستعمرات (سم) للفطريات الممرضة والنسبة المئوية للتثبيط تحت تراكيز مختلفة من مستخلص الريحان المائي.

الفطريات / تركيز المستخلص		5%	10%	15%	20%	25%	30%	مقارنة	المعدل
R. solani.	قطر المستعمرة	8.10* C	6.33 E	4.65 G	2.55 I	0.35 L	0.00 M	9.00 A	4.42 C
	% للتثبيط	10	29.63	48.28	71.67	96.11	100	0.0	59.28
M. phaseolina.	قطر المستعمرة	8.73 B	8.16 C	7.11 D	4.56 G	0.86 K	0.00 M	9.00 A	5.49 A
	% للتثبيط	2.97	20.93	20.93	49.27	90.38	100	0.0	45.46
F. solani.	قطر المستعمرة	8.85 AB	8.26 C	5.70 F	3.56 H	1.66 J	0.26 L	9.00 A	5.33 B
	% للتثبيط	1.67	8.16	36.67	60.38	81.56	97.04	0.0	47.58
المعدل	قطر المستعمرة	8.56 B	7.58 C	5.82 D	3.56 E	0.96 F	0.08 G	9.00	
	% للتثبيط	4.88	15.68	35.29	60.44	89.35	99.01	0.0	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

* كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص الريحان على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

تشير نتائج الجدول (2) الى ان كافة التراكيز احدثت تثبيطا في نمو الفطريات الممرضة انعكس بخفض اوزانها الجافة خفظاً معنويا نسبة للمقارنة وكان الفطر *M. phaseolina* اكثرهم تثبيطا عند التركيزين 5 و 10% اذ بلغت 20 و 28.18% على التوالي ولكن عند التركيزين 15 و 20% كان الفطر *R. solani* اكثر الفطريات تثبيطا ولم يختلف الفطر *M. phaseolina* معنويا عن *R. solani* في نسب التثبيط عند التركيز 25%. اما عند التركيز 30% تم تثبيط الفطرين بالكامل (100%) بينما بلغت نسبة تثبيط الفطر *F. solani* 94.04% وربما تفسر هذه النتائج الى احتواء المستخلص المائي لاوراق الريحان على مركبات فعالة مثل التانينات والبوليفينولات والفلافونات والترينويدات والقلويدات التي تمتلك تأثيرا مثبطا تجاه الاحياء المجهرية (Cowan, 1999) الذي قد يعزى الى فعالية المركبات الفينولية التي

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

يحتويها النبات والتي تعتمد على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات مما يؤدي الى نسخ البروتين ومن ثم عدم مقدرة الاحياء المجهرية على الاستمرار بالنمو (Hamburger and Hostettmann, 1991).

الجدول 2 : الوزن الجاف (غم) للغزل الفطري للفطريات الممرضة والنسبة المئوية للتثبيط تحت تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للريحان

الفطريات / تركيز المستخلص		%5	%10	%15	%20	%25	%30	مقارنة	المعدل
R. solani.	الوزن الجاف	0.66* D	0.54 F	0.35 H	0.22 J	0.07 LM	0.00 O	0.72 C	0.36 C
	% للتثبيط	7.92	25	50.97	69.44	89.86	100	0.0	57.19
M. phasealina.	الوزن الجاف	0.61 E	0.55 F	0.52 G	0.37 H	0.09 L	0.00 O	0.77 B	0.41 B
	% للتثبيط	20	28.18	32.46	51.17	87.92	100	0.0	54.33
F. solani.	الوزن الجاف	0.71 C	0.61 E	0.51 G	0.31 I	0.19 K	0.05 MN	0.84 A	0.46 A
	% للتثبيط	15.48	26.66	39.28	63.09	77.02	94.04	0.0	51.80
المعدل	الوزن الجاف	0.66 B	0.57 C	0.45 D	0.30 E	0.11 F	0.22 G	0.77 A	
	% للتثبيط	14.47	26.16	42.09	61.23	84.93	97.32	0.0	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

- كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

أختبار القدرة التضادية للمقاوم الاحيائي *T. harzianum*

يتضح من نتائج (الجدول 3) ان درجة تضاد كل من الفطرين *M. phaseolina* و *F. solani* كانت عالية وبلغت (1.0) حسب تقدير السلم الخماسي الذي اعده Bell واخرون (1982) حيث ان نموات المقاوم الحيوي تغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو. اما بالنسبة للفطر *R. solani* فقد كانت درجة تضاده (2.0) حيث غطت نموات الفطر المقاوم ثلثي

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مساحة الطبق وغطى الفطر الممرض الثلث الباقي وتعتبر هذه درجة تضاد عالية وفعالة ضد المسبب المرضي.

الجدول 3 : التضاد بين المقاوم الحيوي الفطري *T. harzianum* والفطريات الممرضة.

الفطريات الممرضة	درجة التضاد
R. solani	2
M. phaseolina	1
F. solani	1

ولوحظ ان هناك تلامسا مباشرا بين مستعمرة المقاوم الحيوي ومستعمرات الفطريات الممرضة تلاه نمو مستعمرة المقاوم الحيوي فوق سطح المستعمرات الفطرية الممرضة والتفاف بعض خيوط الغزل الفطري للمقاوم الحيوي حول الغزل الفطري للفطريات الممرضة كما لم يلاحظ في جميع الحالات ظهور مناطق فاصلة بين النموات الفطرية لمستعمرة المقاوم الحيوي والنموات الفطرية لمستعمرات الفطريات الممرضة مما قد يشير الى ان هناك نشاط تطفلي لـ *T. harzianum* على الفطريات الممرضة.

وقد توصل العديد من الباحثين الى قدرة المقاوم الحيوي *T. harzianum* على افراز انزيمات محللة او مضادات حيوية مثل Viridin و Trichodermine وافراز مواد ايضية غازية مثل acetaldehyde وهي ذات تاثير تثبيطي في نمو عدد من الفطريات الممرضة المسببة لموت بادرات الباميا (Harman, 2000).

تأثير تراكيز مختلفة من راشح المقاوم الاحيائي *T. harzianum* في نمو الفطريات الممرضة

ادت اضافة راشح المقاوم الحيوي *T. harizanum* الى الوسط الغذائي بتراكيزه المختلفة الى تثبيط معنوي في نمو جميع الفطريات الممرضة نسبة للمقارنة (جدول 4) واثر الراشح بشكل اكثر ايجابية على نمو الفطر *M. phaseolina* وبكافة تراكيزه 10 و 20 و 30% اذ بلغت نسب التثبيط 40.93 و 73.15 و 98.16% على التوالي يليه الفطر *F. solani* ثم الفطر *R. solani* اذ بلغت نسب التثبيط عند التركيز 30% 96.48 و 81.13% على التوالي.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الجدول 4: اقطار المستعمرات (سم) للفطريات الممرضة والنسبة المئوية للتثبيت تحت تأثير تراكيز مختلفة من راشح المقاوم الحيوي *T. harzianum*

الفطريات / تركيز الراشح		%10	%20	%30	مقارنة	المعدل
R. solani.	قطر المستعمرة	7.36* B	4.78 E	1.68 H	9.00 A	5.70 A
	% للتثبيط	18.22	46.88	81.13	0.0	48.74
M. phaseolina.	قطر المستعمرة	5.31 D	2.41 G	0.16 I	9.00 A	4.22 C
	% للتثبيط	40.93	73.15	98.16	0.0	70.74
F. solani.	قطر المستعمرة	5.86 C	3.56 F	0.31 I	9.00 A	4.68 B
	% للتثبيط	34.82	60.37	96.48	0.0	63.89
المعدل	قطر المستعمرة	6.18 B	3.58 C	0.72 D	9.00 A	
	% للتثبيط	31.3	60.13	91.92	0.0	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

* كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

تأثير راشح المقاوم الاحيائي *T. harzianum* على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

تشير نتائج الجدول (5) الى ان راشح المقاوم الحيوي وبتراكيزه المختلفة له تأثير معنوي في خفض الوزن الجاف لجميع الفطريات الممرضة عند الاضافة الى الوسط الغذائي PSA ويلاحظ ان الفطر *M. phaseolina* اكثر الفطريات حساسية لراشح المقاوم الحيوي من تركيز 10% ولغاية 30% اذ بلغت نسب التثبيط 41.67 و 95.88% على التوالي، يليه ايضا الفطر *F. solani* ثم الفطر *R. solani* ويدعم نتائجنا ما اورده Elads واخرون (1983) وادم ،(2000) فقد ذكرا ان الفطر *T. harzianum* يهاجم الفطر الممرض *R. solani* بصورة مباشرة وذلك بتكوين عقد هايفية (hyphal coils) وخطاطيف (hooks) واعضاء التصاق (appressoria) وكذلك تتفق نتائجنا مع ما توصل اليه العميري ، (2001) الى ان راشح المقاوم الاحيائي *T. harzianum* كان له تأثير معنوي في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *F. solani* و *R. solani* و *P. aphanidermatum* المسببة لموت بادرات الطماطة في المشتل عند استخدام التركيزين 10% و 20% . وكذلك دراسة Mohamd وRaya - Abo (1983) من ان راشح المقاوم الحيوي *T.harzianum* قد ثبط نمو كل من *R. solani* و *Sclerotium rolfsii* و *F.*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

oxysporum f. sp. *lycopersica* عند اضافته لمزارع هذه الفطريات بعد اسبوع او عشرة ايام وبنسبة مختلفة.

الجدول 5: الوزن الجاف (غم) للغزل الفطري للفطريات الممرضة والنسبة المئوية للتثبيط تحت تأثير تراكيز مختلفة من راشح المقاوم الحيوي *T.harzianum*

الفطريات / تركيز الراشح		%10	%20	%30	مقارنة	المعدل
R. solani.	الوزن الجاف	0.64* C	0.32 E	0.09 F	0.94 A	0.50 A
	% للتثبيط	32.03	65.75	89.50	0.0	62.42
M. phaseolinae.	الوزن الجاف	0.35 E	0.07 F	0.03 G	0.60 C	0.26 C
	% للتثبيط	41.67	88	95	0.0	74.89
F. solani.	الوزن الجاف	0.44 D	0.22 E	0.0 F	0.74 B	0.36 B
	% للتثبيط	35.62	69.84	93.30	0.0	66.25
المعدل	الوزن الجاف	0.47 B	0.20 C	0.06 D	0.76 A	
	% للتثبيط	36.44	74.53	92.15	0.0	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

* كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

التأثير المشترك لمستخلص اوراق الريحان وراشح المقاومة الحيوي *T. harzianum* في نمو الفطريات الممرضة.

اعطى تداخل مستخلص الاوراق مع راشح المقاوم الحيوي نتائج ايجابية في تثبيط نمو الفطريات الممرضة فقد سببت جميع التراكيز المتداخلة تثبيطاً لنمو الفطريات الممرضة بالقياس مع المعاملة بدون إضافة (المقارنة) وكان لها تأثير مثبط قوي الفعالية في خفض نمو المستعمرات الفطرية مقارنة بالمعاملات المنفردة. ويلاحظ من النتائج الواردة في جدول (6)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الجدول 6: اقطار المستعمرات (سم) والنسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات الممرضة تحت تراكيز متساوية من المستخلص المائي لاوراق الريحان وراشح المقاوم الحيوي *T. harzianum*

الفطريات / تركيز المستخلص والراشح		المستخلص المائي لاوراق الريحان وراشح الفطر *T. harzianum*			
		%10	%20	%30	مقارنة
R. solani	قطر المستعمرة	5.93 B	2.12 E	0.00 F	9.0 A
	% للتثبيط	34.11	76.45	100	
M. phaseolina	قطر المستعمرة	4.90 C	2.08 E	0.00 F	9.0 A
	% للتثبيط	45.56	76.89	100	
F. solani	قطر المستعمرة	5.88 B	2.98 D	0.00 F	9.0 A
	% للتثبيط	34.67	66.88	100	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عنـــد مـــستوى احتمـــال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

* كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

ان الفطر *M. phaseolina* اكثر الفطريات تثبيطاً عند التركيز 10% اذ بلغ 45.56% ولم يختلف *R. solani* و *F. solani* عن بعضهما معنويا في نسب التثبيط كما لم يختلف *M. phaseolina* عن *R. solani* معنوياً عند التركيز 20% . في حين بلغت نسبة التثبيط 100% عند التركيز العالي 30%.

واظهر تأثير التداخل على الوزن الجاف ارتفاع نسب التثبيط بالقياس مع المعاملات المنفردة اذ احدث التداخل بين العاملين تثبيطاً عاليا للفطر *M. phaseolina* في جميع التراكيز المستخدمة وادى تركيز 30% الى منع نمو جميع الفطريات الممرضة بصورة كاملة.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الجدول 7: الوزن الجاف (غم) للغزل الفطري للفطريات الممرضة والنسب المئوية للتثبيط بوجود تراكيز متساوية من المستخلص المائي لاوراق الريحان وراشح المقاوم الحيوي *T. harzianum*

تركيز المستخلص والراشح / الفطريات		10%	20%	30%	المقارنة
R. solani	الوزن الجاف	0.47 C	0.17 F	0.0 G	0.79 A
	% للتثبيط	40.51	78.48	100	
M. phaseolina	الوزن الجاف	0.28 E	0.02 G	0.0 G	0.66 B
	% للتثبيط	57.58	96.97	100	
F. solani	الوزن الجاف	0.35 D	0.15 F	0.0 G	0.80 A
	% للتثبيط	56.25	81.25	100	

الحروف المختلفة في المعاملات عموديا وافقيا تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

* كل قراءة تمثل معدلاً لثلاث قراءات

وجاءت هذه النتائج لتؤكد كفاءة فاعلية التأثير المشترك للعاملين فقد كان للتركيز 30% التاثير الاكبر في تثبيط نمو الفطريات الممرضة بالكامل واثبت اسلوب التأزر افضلية في مكافحة الفطريات المسببة لموت بادرات البامية.

ويدعم نتائجنا ماتوصل اليه سرحان، (2006) الذي اشار الى تعاضد مستخلص اوراق نبات النعناع مع راشح الفطر *T. harzianum* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة المرافقة لبذور البقوليات.

وخلاصة القول فان استخدام التآزر بين عاملي المستخلص المائي لاوراق الريحان وراشح المقاوم الحيوي الفطري كان له الاثر المعنوي في خفض نمو الفطريات الممرضة وامكان تطبيق هذا التآزر في تجارب البيت الزجاجي لمعرفة تأثيرهما في خفض نسبة موت البادرات وتعفن جذور الباميا وانعكاس ذلك على مواصفات النبات الخضرية.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المصادر العربية

العميري، نوفل سليمان محمد، (2001). طرق مختلفة لمقاومة مرض موت بادرات الطماطا في المشتل. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

العبيدي، ضحى اسماعيل ابراهيم، (2007). تحسين كفاءة المقاوم الحيوي *T.viride* باستخدام السكر المتعدد الميكروبي لمقاومة الفطريات المصاحبة لبذور الباميا *Abelmoschus esculentus* L. Moench. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

السميري، احسان عيدان عبد الكريم، (1999). دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلصات المائية لنبات الثوم. *المجلة الصحية لشرق المتوسط*، **5** (4)، 803-810.

سرحان، عبد الرضا وعبد الأمير، سمير سعدون،(2000). دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الفطريات المرافقة لبذور الشعير المخزونة. *المجلة العراقية للعلوم*. **41** (2)،122 -139.

سرحان، عبد الرضا طه، (2006). تداخل إضافة مستخلصات أوراق النعناع مع الفطريات ذات الخاصية التضادية على الفطريات المرافقة لبذور البقوليات. *مجلة وقاية النبات العربية*. **24** (2)، 118-124.

آدم، كمال إبراهيم،(2000). المقاومة المتكاملة لمرض تعفن بذور وجذور وموت بادرات الطماطا. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

Bais, H. P.; Travis, S.; Walker, H. P.; Schweizer; Jorge, M. V. (2002). Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum* pl. *Physiol. Biochem.* **40,** 983-995.

Bell, D.K.; Wells, H.D. ; Markham, C.R. (1982). The *in vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathol.* **72,** 379-382.

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12,** 564-582.

Daoud, A..S.; Qasim, N.A..; Al-Mallah, N.M. (1990). Comparison study on the effect of plant extracts and pesticides on some phytopathogenic fungi. *Mesopotamia J. Agric.* **22,** 227-235.

Elads, Y; Chet, I.; Boyle, P. ; Henis, Y.(1983). Parasitism of *Trichoderma* spp. On *Rhizoctonia solani* and fluorescence microscopy. *Phytopathol.* **73,**85-88.

EL-Mougy, N. S.; Abdel-Kader; Mokhtar, M. (2007). Antifungal effect of powdered spices and their extracts on growth and activity of some fungal in relation to damping-off disease control. *J. of Pl. Protect Res*., **47** (3), 267-277.

Hamburger, H. ; Hostettmann, K.(1991). The link between Phytochemistry and Medicine. *Phytochem.* **30,** 3864-3874.

Harman, G.E.(2000). Mythus and dogmas of biocontrol Pl. *Dis.*, **84,** 377-393.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Isman, M.B.(1989). "Toxicity and Fate of Acetylchromines in Pest Insects A.C.S. Symposium Series 387". Am. Chem. Soc. Washington**.** pp. 44-58.

Mohamed, S.A..; Abo-Raya, A.. (1983). Biological control of tomato damping-off, *Monofiya J. Agric. Res*., **18,** 2131-2140.

Rios, J.L.; Recio, M.C.; Villar, A.. (1987). Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. *J. of Enthnopharma*. **21,** 139-152.

Wenzhang-Ji; Kunli-Sheng; Wen-Jun, Wu.(2009). The main chemical composition and in vitro antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn. Var. *Pilosum (willd.) Benth. Molecules* **(14),** 273-278.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com