مجلة المثنى للعلوم الزراعية المجلد (8) العدد(1) لسنة 2020
Al-Muthanna J. For Agric Sci. Print ISSN: 2226-4086 Online ISSN:2572-5149
مجلة المثنى للعلوم الزراعية
www.muthjas.com

Role of some fungal biocontrol agents to protect foliar of cucumber plants

***Abdul Nabi Abdulameer Matroud,**
Thakaa Fayez Mohammed
College of Agriculture, Univ. of Basrah

Article Info.
Received Date 31/12/2019
Accepted Date 11/02/2020
Keywords
Biological control, Aspergillus,* Cucumber, *Mucor, Trichoderma

Abstract

This study aimed to find biological factors that increase plant growth and thus the resistance of shoot fungi away from the use of chemical pesticides. The study included isolation of a large group of soil fungi Surrounding the roots of the cucumber plant grown in the greenhouse. The results of study showed the ability of fungal isolates to dissolve the phosphorus component in medium NBRIP under shaking incubated conditions. The treatment of *Aspergillus niger* reduced the pH after 5, 10, 15 days of incubation an average of 3.760, 3.763, 2.947 respectively. The laboratory fungal isolates have also showed their ability to produce the hormone acetic acid IAA. The results showed an increase in growth parameters of plants treated with the biological resistance fungi *A. niger* and *T. koningi2* by increasing the wet and dry weight of the shoots and roots. The results of the peroxide enzyme estimate also confirmed the increase of this enzyme due to the biological resistance fungi as the treatment of *A. niger* reached 0.02067 compared to the comparison treatment, it reached 0.01333. This is an indication of the increased induction of systemic resistance in the cucumber plant, as the pathogenic fungi were not recorded on the plants treated with the biological resistance fungi, and *A. alternata* was recorded on the comparison treatment.

Corresponding author: E-mail(*abdu1988875@yahoo.com*) Al- Muthanna University All rights reserved

دور بعض فطريات المقاومة الحيوية في الوقاية من الاصابة بفطريات المجموع الخضري لنبات الخيار

***عبد النبي عبدالامير مطرود**
ذكاء فايز محمد
جامعة البصرة – كلية الزراعة

هدفت هذه الدراسة الى إيجاد عوامل أحيائية تزيد من نمو النبات وبالتالي مقاومة فطريات المجموع الخضري بعيدا عن استعمال المبيدات الكيميائية. تضمنت الدراسة عزل مجموعه كبيرة من فطريات التربة المحيطة بجذور نبات الخيار المزروع في البيت البلاستيكي. بينت نتائج الدراسة قدرة العزلات الفطرية على اذابة عنصر الفسفور في الوسط الغذائي NBRIP في ظروف التحضين المتحرك اذ خفضت معاملة الفطر *Aspergillus niger* دالة الحموضة pH بعد 5 و10 و15 يوم من الحضن بمتوسط بلغ 3.760 و3.763 و2.947 على التوالي . كما أظهرت العزلات الفطرية المختبرية قدرتها على انتاج هرمون حامض الخليك IAA. أوضحت النتائج زيادة في معايير نمو النباتات المعاملة بفطريات المقاومة الحيوية *A. niger* و*T. koningi* 2 من خلال زيادة الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري. كما اكدت نتائج تقدير انزيم البيروكسيد زيادة هذا الانزيم بفعل فطريات المقاومة الحيوية اذ بلغت معاملة الفطر *A. niger* 0.02067 مقارنة بمعاملة المقارنة بلغ 0.01333 وهذا مؤشر على زيادة استحثاث المقاومة الجهازية بنبات الخيار حيث لم تسجل الفطريات الممرضة على النباتات المعاملة بالفطريات المقاومة الحيوية وسجل الفطر *A. alternata* على معاملة المقارنة.

المقدمة:

أستخدمت الكائنات الحية الدقيقة منذ عقود في تحسين نمو النبات لما تمتلكها من اليات مهمة مثل التطفل والتضاد واستحثاث المقاومة الجهازية وكبح الامراض النباتية وجاهزية العناصر من خلال اذابة الفسفور والبوتاسيوم (Xiao واخرون، 2008). تلعب العناصر الغذائية دورًا مهمًا في تعزيز نمو النبات وخصوصا العناصر الأساسية منها النتروجين والفسفور والبوتاسيوم، ويعد عنصر الفسفور من اهم العناصر الغذائية للنبات في التربة وهو من محددات الإنتاج الزراعي في العالم حيث يتواجد بصورة غير جاهزة للنبات، ويمكن زيادة جاهزيته للنبات من خلال استخدام الاحياء الدقيقة في اذابة هذا العنصر بالاشتراك مع النبات ليصبح سهل الامتصاص من قبل النبات (Whitelaw، 2000). تؤدي الفطريات دورًا مهمًا في التربة او تنشئ علاقة تبادل منفعة بينها وبين النبات فهي تعمل على زيادة امتصاص بعض العناصر الغذائية الممسوكة بالتربة واهمها عنصر الفسفور كما تعمل الفطريات المقاومة الحيوية زيادة تحمل النبات لظروف الاجهاد

البيئـي (Rashid واخـرون، 2004). فضـلا عـن زيـادة محتـوى الكلوروفيل بالنبـات، كمـا تعمل أيضـا علـى مقاومـة فعل المسببات المرضـية فـي الجـذور والأوراق مـن خـلال اسـتحثاث المقاومـة الجهازية بالنبات عن طريق زيادة انتاج الفايتوالكسينات او زيادة انتاج الانزيمات او تثخين جدار الخلايا النباتية (Faw واخرون، 1998). كما ان هذه الفطريات تؤثر على معايير نمو النبات وذلك من خلال تحسين العمليات الايضية وتشجيع امتصاص العناصر الغذائية وتساعد النبات في امتصاص الماء ومقاومة الجفاف كما تفرز هذه الفطريات بعض منظمات النمو كالجبرلين والساتوكاينين في منطقة الرايزوسفير (Rhizosphere) حول الجذر. وان هذه الافرازات تؤدي دورا مهما في استطالة خلايا النبات وتحفيز نمو الشعيرات الجذرية وبعد ذلك زيادة كثافة الجذور الذي ينعكس إيجابيا على نمو النبات (بشير، 2003 وعلي واخرون 2009 والكرطاني والطائي 2011).

المواد وطرائق العمل :

عزل وتشخيص فطريات المقاومة الحيوية

جلبت تربة محيطة بجذور نبات الخيار المزروع في البيت البلاستيكي من ثلاث مناطق وهي شط العرب وأبي الخصيب وكرمة علي الى المختبر وتم طحن التربة بواسطة هاون خزفي وتصفيتها بمنخل 2 مل حجم فتحاته لغرض عزل الفطريات بطريقة التخافيف وطريقة الزرع المباشر واستخدم الوسط الغذائي PDA والوسط الغذائي MEA (Malt extract agar) لتنمية الفطريات المقاومة الحيوية وتشخيصها.

اختبار أمراضية فطريات المقاومة الحيوية على بذور الخيار

لقحت أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي المعقم Water agar بقرص قطرة 0.5 سم من مستعمرة فطريات المقاومة الحيوية بعمر خمسة أيام وكلا على حدة , وبعد ثلاثة أيام زرعت بذور الخيار صنف ميمون المعقمة سطحيا بهايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) تركيز 1% لمدة 2-3 دقائق بصورة دائرية حول حواف الطبق وبواقع 7 بذرة لكل طبق، ثم وضعت الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ±2م° مع ترك معاملة مقارنة تتضمن بذور معقمة مزروعة على أطباق خالية من فطر المقاومة الحيوية, وبعد ذلك تسجل النتائج بعد عشرة أيام من الزرع وذلك بحساب النسبة المئوية لإنبات البذور حسب المعادلة :

$$\% \text{ للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

قدرة فطريات المقاومة الحيوية على اذابة عنصر الفسفور في الاوساط الغذائية السائلة NBRIP

اخذ قرص بقطر 5 ملم من عزلات الفطريات المقاومة الحيوية والمزروعة على الوسط PDA بعمر 5 ايام وزرعت في دوارق سعة 250 مل حاوية على الوسط الغذائي المعقم (NBRIP) بدون اضافة Agar بحجم 150 مل حضنت الدوارق على درجة حرارة 28±2م° في حاضنة هزازة 120 دورة/دقيقة وبثلاثة مكررات لكل عزلة فطرية ، اما معاملة المقارنة فكانت حاوية على الوسط الغذائي المعقم فقط قيست قيمة دالة الحموضة pH للوسط الغذائي ابتداءا ثم التغير في قيمة دالة الحموضة pH للوسط الغذائي بعد 5 و10 و15 يوما من التلقيح باستخدام جهاز pH meter الرقمي (Nenwani، 2010) بعد معايرة الجهاز بواسطة محلول بفر ذي pH = 4 و 7.

الكشف عن أنتاج الهرمون النباتي اندول حامض الخليك Indole Acetic Acid IAA (الطريقة اللونية) من قبل فطريات المقاومة الحيوية في المختبر

اخذ قرص بقطر 5 ملم من عزلات الفطريات الخمس المتميزة في تحفيز النمو وتشجيعة والمزروعة على الوسط الغذائي P.D.A بعمر 5 ايام وزرعت في دوارق سعة 250 مل حاوية على 100مل من الوسط الغذائي لمعقم Czapek_Dox broth مضاف اليه 1000 ug ml^{-1} من tryptophan لكل وعاء، حضنت الدوارق على درجة حرارة 2 ±28 م° في حاضنة هزازة 120 دورة/دقيقة. اخذ بعد 5 ايام 5 مل من راشح عزلات الفطريات باستعمال محقنة طبية ورشح على ورق ترشيح (Whatman filter paper NO.40) ووضع الراشح في انبوبة اختبار ووضع في جهاز الطرد المركزي على سرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة 10دقائق ثم باستخدام مرشح ملي بور قياس 0.22 ملي مايكرون. ثم اخذ 1 مل من الراشح ومزج مع 2 مل من كاشف Salkowaski المتكون من (50 ml 35% + HCIO _ 1 ml_0.5 FeCl3) وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 25 دقيقة (Weber and Gordon, 1951). أجريت التجربة بثلاثة

مكررات لكل عزلة فطرية اما معاملة المقارنة فاحتوت على الوسط الغذائي مضاف له tryptophan فقط. اعيدت العملية نفسها بعد مرور 10، 15 يوما من الحضن. حدد انتاج الاوكسين من قبل العزلات الفطرية المختبرة باستخدام جهاز المطياف الضوئي (UV spectrophotometer) عند 530 نانومتر. برسم منحنيات لإنتاج العزلات الفطرية للاوكسين وقورنت مع منحني القياسي للاوكسين (Brick واخرون، 1991)، فضلا عن تقدير الكتلة الحيوية الفطرية حيث رشح الوسط الغذائي في ورق ترشيح (Whatman filter paper No.1) واخذت الكتلة الحية للعزلة الفطرية ووضعت على ورق نشاف للتخلص من الماء الحر بعدها جففت في الفرن على درجة حرارة 70 م° لمدة 24 ساعة ووزنت في ميزان رقمي حساس.

تأثير فطريات المقاومة الحيوية في نمو النبات وحمايته من الاصابة بفطريات المجموع الخضري في البيت البلاستكي

نفذت التجربة في موقع أبحاث كلية الزراعة/جامعة البصرة – كرمة في بداية شهر شباط للعام 2019 في بيت بلاستيكي أبعاده 5× 20 م، حرثت التربة وسويت ثم قسمت إلى مروز بواقع ثلاثة مروز طول المرز الواحد 19م المسافة بين مرز وآخر 2م والمسافة بين جوره وأخرى 60 سم يحتوي كل مرز على (14) وحدة تجريبية ، ثم اضيف اللقاح الفطري المحمل سابقا على بذور دخن بنسبة 1% وزن/وزن في جور ثم بعد ذلك زرع في كل جوره خمس بذرات من نبات خيار صنف ميمون واعتمدت طريقة الري بالتنقيط لسقي النباتات ونفذت المعاملات بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة وشملت التجربة المعاملات الأتية:

ت	المعاملات
.1	T1
.2	Control
.3	T1 + Mu
.4	T1+T2+A.n+Mu
.5	T1 + A.n
.6	Mu + A.n
.7	T2 + A.n
.8	T1 + A.n + Mu
.9	T2
.10	A.n
.11	T2 + Mu
.12	T1+T2
.13	Mu
.14	T2 +A.n + Mu

حيث أن :

T1**:** *Trichoderma koningi 1*

T2: *Trichoderma koningi 2*

A.n: *Aspergillus niger*

A.F**:** *Aspergillus flavus*

Mu**:** *Mucor sp*

في نهاية الموسم تم قياس الطول والوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والطول والوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري وتقدير انزيم البيروكسديز في أوراق نبات الخيار وتقدير الكلوروفيل الكلي للنبات وتقدير محتوى الأوراق من عنصر الفسفور وتقدير الصفات النوعية للثمار (نسبة المواد الصلبة الذائبة الكلية، حامض الاسكوربك فيتامين c) وقياسات الحاصل ومكوناتة (عدد الثمار، وزن الثمرة، حاصل الثمار) وتأثير فطريات المقاومة الحيوية في اصابة نبات الخيار بأمراض المجموع الخضري.

تقدير انزيم البيروكسديز في أوراق نبات الخيار:

اخذت أوراق من نبات الخيار ووضعت في أكياس بولي إيثلين معلمة كل بحسب معاملته ووضعت في صندوق حاوٍ على الثلج ونقلت الى المختبر واخذ 150 ملغم وزن طري من الأوراق وغسلت بالماء المقطر الخالي من الأيونات واضيف لها 2.5 مل من المحلول المنظم Potassium phosphate buffer بتركيز 0.05 مولاري الذي يتكون من فوسفات البوتاسيوم ثنائية البوتاسيوم (K_2PO_4) وفوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين (K_2HPO_4) وبدالة هيدروجنية مقدارها 6 ، وضع الخليط بجهاز الطرد المركزي على 12000 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة ثم اضيف الية 250 مايكروليتر كل من صبغة Gauiacol بتركيز 0.5 % وبيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.3%) حجم/حجم و2.5مل من المحلول المنظم، تمت القراءة بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 470 نانومتر (Kim واخرون ، 1988) وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ، وقدر النشاط الأنزيمي على أساس وحدة امتصاص انزيمية لكل غرام وزن رطب، حسب النشاط الانزيمي وفق المعادلة التالية :

الفعالية الانزيمية (وحدة امتصاص/غم وزن طري) =

قراءة الجهاز

وزن النموذج ÷ حجم الاستخلاص × الحجم المأخوذ للقراءة

تقدير الكلوروفيل الكلي للنبات:

حسب الكلوروفيل الكلي للنباتات (المعاملة والغير المعاملة) حيث اخذت اوراق النباتات الطازجة بوزن 0.5 غم وسحقت بواسطة الهاون الخزفي مع إضافة 10 مل من الاسيتون المخفف 80 % لغرض استخلاص الكلوروفيل ثم رشحت بواسطة ورق الترشيح وحفظت في دورق ثم رشحت بواسطة جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وبعدها اخذ الرائق ووضع في جهاز Spectrophotometer على الطولين الموجيين 663 للكلوروفيل A و645 للكلوروفيل B وبعدها تم قياس الكلوروفيل الكلي حسب المعادلة التالية من قبل (Porra ، 2002).

الكلوروفيل الكلي (ملغم. لتر$^{-1}$) =

20.2 (O.D (663 × 8.02 + O.D (645)).

علما ان O.D تمثل قراءة الجهاز الامتصاصية.

تقدير محتوى الأوراق من عنصر الفسفور:

اخذت أوراق نباتات الخيار وجففت في فرن كهربائي على درجة حرارة 70 م° لمدة ثلاث ساعات الى ان جفت العينات، طحنت الأوراق واخذ 0.2 غم من نموذج المطحون وهضم بواسطة حامضي الكبريتيك والبيروكلوريك تم تقدير الفسفور بطريقة اللون الأزرق باستخدام جهاز الطيف الضوئي على طول موجي 700 nm .

النتائج والمناقشة:

عزل فطريات المقاومة الحيوية من تربة جذور نبات الخيار:

تم عزل مجموعة من الفطريات الحيوية بطريقتين التخافيف والزرع المباشر واخذت خمس عزلات فطرية كعزلات مقاومة احيائية شخصت العزلات الخمس التي تعود الى ثلاثة اجناس فطرية مختلفة التي عزلت من مناطق مختلفة هي كرمة على وشط العرب وابي الخصيب جدول (1) وكان الجنس *A. niger* الأكثر تواجد من بين الأنواع المعزولة الأخرى، حيث تميز الجنس *A. niger* بأعلى تردد في منطقة كرمة علي يليه الفطر *Trichoderma koningi*. ويعود سبب اختلاف تردد هذه الفطريات الى طبيعة الوسط ودرجة الحرارة وكذلك الدالة الحامضية pH المناسبة لنمو هذه الفطريات. وتعدَ الرطوبة ودرجة الحرارة من العوامل التي تؤثر على نمو الفطريات، حيث ان نمو الفطر *A. niger* يزداد بزيادة الرطوبة النسبية وان الرطوبة المنخفضة تمنع نمو هذا الفطر (Al-Garni واخرون، 2007).

جدول (1) العزلات الفطرية التي حصل عليها من تربة جذور نبات الخيار من طريقة التخافيف

ت	الموقع	اسم العزلة الفطرية

1	شط العرب	*Trichoderma koningi,* *Fusarium sp,*	*Aspergilles niger* *Penicillum sp,*	*A. flavus*
2	ابي الخصيب	*A. niger,*	*T. koningi,*	*A. flavus*
3	كرمة علي	*Fusarium sp,* *Alternaria sp,* *Rhizoctoctonia solani,*	*Penicillum sp,* *Mucor sp,* *Paceliomyces sp*	*A. niger* *Cladosporium sp*

أختبار إمراضيه فطريات المقاومة الاحيائية على بذور الخيار في اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي W.A

أظهرت نتائج جدول (2) عدم وجود فرق معنوي في تأثير فطريات المقاومة الحيوية على النسبة المئوية لإنبات بذور الخيار، الا ان عزلات فطريات المقاومة الحيوية كان لها تأثير معنوي في معايير النمو المدروسة للبذور، كطول الوريقات، طول السويق، طول الجذير اذ تميزت العزلة الفطرية *T. koningi ،A. flavus* ، *A.niger* ، على باقي العزلات في احداث اعلى تأثير إيجابي للفطريات المقاومة الحيوية في متوسط طول السويق والجذير ، اذ بلغ متوسط طول السويق للعزلات الفطرية الثلاثة 3.000 % مقارنة بمعاملة المقارنة بلغت 2.500%، اما بالنسبة لطول الجذير فقد بلغ 3.000 ،2.833، 3.00% على التوالي. هذه النتيجة تبين اختلاف قدرة العزلات *Aspergillus*، *Trichoderma* في تأثيرها على معايير نمو بادرات الخيار وهذا التباين يعود الى تباين أنواع العزلات المختلفة وخلفيتها البيئية ومن ثم تباين نشاطها الايضي الذي يؤدي دورا مهما في تحفيز انبات البذور وهذا ما أكده حافظ (2001) ومن ناحية أخرى ممكن ان يعزى ذلك الى قدرة العزلات الفطرية على افراز مواد محفزة للإنبات والنمو كالمواد الشبيهة بالهرمونات النباتية وهذا يتفق مع ما ذكره حميد (2002)

جدول (2) اختبار القدرة الامراضية لعزلات فطريات المقاومة الحيوية على بذور الخيار صنف ميمون

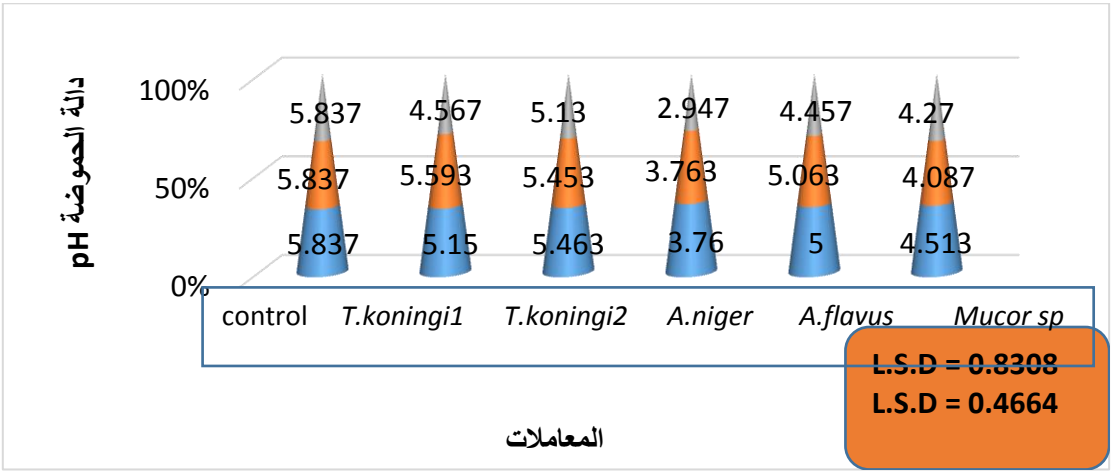
ت	المعاملات	طول الوريقات	طول السويق	طول الجذير	المتوسط
1	Control	2.500	2.500	2.500	2.500
2	*T. koningi 1*	2.500	2.833	3.000	2.777
3	*T. koningi 2*	2.333	3.000	3.000	2.777
4	*A. niger*	2.500	3.000	2.833	2.777
5	*A. flavus*	2.500	3.000	3.000	2.833
6	*Mucor sp*	2.500	2.833	2.667	2.666
	L.S.D	**0.2939**	**0.6572**	**0.6572**	**N.S**

قدرة فطريات المقاومة الحيوية على اذابة عنصر الفسفور في الاوساط الغذائية السائلة NBRIP

بينت نتائج التجربة المختبرية في اختبار كفاءة العزلات الفطرية الخمس في الأوساط السائلة في خفض دالة الحموضة الى وجود فروق معنوية بين العزلات الفطرية الخمسة في ظروف الحضن المتحرك وخلال فترات الحضن المختلفة 5 ، 10 ، 15 يوما على التوالي . حيث بينت نتائج شكل (1) ان الوسط الغذائي السائل NBRIP خلال ظروف الحضن المتحرك (120 دورة/دقيقة) خفض دالة الحموضة للعزلات الفطرية ، اذا تفوقت العزلة الفطرية *A.niger* على باقي العزلات في خفض دالة الحموضة بعد خمسة أيام من الحضن المتحرك بمتوسط بلغ 3.760 تليها العزلة الفطرية بمتوسط بلغ 4.513 مقارنة بالمعاملة المقارنة بلغت 5.837 ، وبعد 10 أيام من الحضن المتحرك تميزت عزلة الفطر *A.niger* بخفض دالة الحموضة بمتوسط بلغ 3.763 مقارنة بمعاملة المقارنة 5.837 .اما بعد 15 يوما من الحضن المتحرك انخفضت دالة الحموضة pH في العزلة الفطرية *A.niger* بلغت 2.947 اما العزلة الفطرية Mu بلغت 4.270 مقارنة بمعاملة المقارنة 5.837 .

يتضح من النتائج وجود تباين في قدرة العزلات الفطرية الخمس في خفض دالة الحموضة pH في الوسط الغذائي السائل، الا ان جميع العزلات تفوقت على معاملة المقارنة. ان التباين الذي أظهرته العزلات الفطرية في قدرتها على خفض دالة الحموضة pH، ربما يعود الى طبيعة كل عزلة وقابليتها على مسك عنصر الفسفور P في كتلتها الحيوية الفطرية وهذا ماكدة Altomare

واخرون (1999) اذ وجد ان زيادة في تركيز الكالسيوم Ca في الوسط الغذائي يرافقة انخفاض في تركيز عنصر الفسفور فيه، ويمكن توضيح ذلك بان الكتلة الحيوية للفطر عملت على سحب عنصر الفسفور من الوسط الغذائي كي يساهم في بناء كتلتها الحيوية إذ يعدَ الفسفور من العناصر الحيوية المهمة لمختلف الكائنات الحية ومنها الفطريات. كما ان التباين بين العزلات الفطرية يعود الى اختلاف افرازاتها الايضية التي تكون سبباً لهذا الفعل كما ذكر Harman (2000). وهذا النتيجة تؤكد قدرة الفطر *Aspergillus niger* على انتاج الاحماض العضوية مثل Oxalic acid و Citric acid maleic acid وformic acid (Kumari واخرون، 2008) .



(شكل 1) التغير في دالة الحموضة pH لعزلات فطريات المقاومة الحيوية في الوسط الغذائي السائل NBRIP في ظروف الحضن المتحرك 120 دورة/دقيقة في درجة حرارة 28 +2 م° للفترة 5 ،10 ،15يوما.

الكشف عن انتاج الهرمون النباتي اندول حامض الخليك Indole Acetic acid(IAA) (الطريقه اللونيه) من قبل فطريات المقاومة الاحيائية في المختبر.

أظهرت نتائج الدراسة قدرة عزلات فطريات المقاومة الحيوية التي استخدمت لتحسين وتشجيع نمو النبات على انتاج هرمون حامض الخليك IAA والذي حدد من خلال محتوى راشح الفطريات المضاف الية 1000 ملغم. لتر$^{-1}$ Tryptophan كبادئ لتصنيع الهرمون في ظروف الحضن المختبرية. حيث أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق عالية المعنوية في محتوى الراشح من الهرمون حامض الخليك IAA للفطريات المقاومة الحيوية الخمس في ظروف الحضن المتحرك incubation Shaking 120 دورة/دقيقة للفترات الممتدة ل5 ، 10 ، 15 يوما على التوالي في درجة حرارة 28± 2 م° ، اذا بينت نتائج جدول (4) تميز العزلة الفطرية *Mucor* بأعلى متوسط لمحتوى الراشح من الهرمون IAA بلغ 0.949 ملغم/100 مل تليها العزلة الفطرية *Aspergillus niger* بمتوسط بلغ 0.878 ملغم/100 مل اما العزلة الفطرية *Aspergilles flavus* أعطت اقل متوسط بلغ 0.707 ملغم/100 مل بعد مرور 15 يوما في ظروف الحضن المتحرك. كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين عزلات فطريات المقاومة الحيوية الخمس وبين فترات الحضن المختلفة في الوزن الرطب والجاف للكتلة الحيوية وكذلك في محتوى الراشح من الهرمون IAA في ظروف الحضن المتحرك جدول (8،7) ، حيث تميزت العزلة الفطرية *A. flavus* بأعلى متوسط للوزن الرطب للكتلة الحيوية بلغ 6.730 غم تليها العزلة الفطرية *A. niger* بمتوسط بلغ 2.805غم، اما العزلة الفطرية *T. koningi1* تميزت بأقل متوسط بلغ 0.303 غم. اما بالنسبة للوزن الجاف للكتلة الحيوية تميزت عزلة الفطر As. n بأعلى متوسط بلغ 0.460 غم تليها العزلة الفطرية *A. flavus* 0.296 غم وتميزت العزلة الفطرية *T.koningi* 1 بأقل متوسط بلغ 0.066 غم.

ولابد من الإشارة هنا الى ان اعلى متوسط لانتاج الهرمون في ظروف الحضن المتحرك كان في اليوم ال15 للعزلة الفطرية *A. flavus* بلغ 0.6810 ملغم/100 مل. وهذه النتائج توضح ماتوصل اليه الطائي وعلوان (2018) التي أظهرت ان الفطريات المحفزة انتجت هرمون حامض الخليك IAA والذي حدد من خلال محتوى راشح الفطريات المضاف اليه 1000 ملغم/لتر$^{-1}$ Tryptophan كبادئ لتصنيع الهرمون في ظروف الحضن المتحرك اذ بينت النتائج تميز الفطر D-1 باعلى متوسط لمحتوى

الراشح من الهرمون IAA اذ بلغ 153.3 ملغم/100 مل تلاه الفطر A-7 بمتوسط بلغ 137.8 ملغم/100 مل، اما الفطر T-113 ظهر بأقل متوسط بلغ 90 ملغم/100 مل بعد مرور 15 يوما في ظروف الحضن المتحرك. كذلك بينت نتائج Bilkay واخرون (2010) حول انتاج IAA من قبل الفطر *A.niger* اذ درس لمدة من 5-16 يوما وكان اعلى انتاج للهرمون في الوسط الغذائي السائل Czapek Dox broth المضاف الية 0.1 % tryptophan في اليوم السادس من الحضن.

جدول (4) انتاج الهرمون حامض الخليك Indole Acetic Acid(IAA) من عزلات فطريات المقاومة الحيوية الخمسة في المختبر في ظروف الحضن المتحرك 120 دورة/دقيقة في درجة حرارة 28 ±2م° لمدة 5 ، 10، 15 يوم .

ت	فطريات المقاومة الحيوية	5 يوم	10 يوم	15 يوم	المعدل
1	*T. koningi 1*	0.939	0.701	0.624	0.755
2	*T. koningi 2*	1.015	0.880	0.520	0.805
3	*A. niger*	1.092	0.817	0.726	0.878
4	*A. flavus*	0.893	0.701	0.529	0.707
5	*Mucor sp*	1.307	0.834	0.705	0.949
	L.S.D	**0.021**	**0.003**	**0.006**	

التأثير الحيوي لعزلات فطريات المقاومة الاحيائية المختبرة في نمو نبات الخيار صنف ميمون في ظروف البيت البلاستيكي:

الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري أظهرت نتائج جدول (4) وجود فروق إحصائية معنوية بين عزلات الفطريات المقاومة الاحيائية في تحفيز وتشجيع نمو نباتات الخيار المزروعة في البيت البلاستيكي في احداث تأثير معنوي في متوسط الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري ، حيث تفوقت جميع عزلات الفطريات الاحيائية في زيادة الوزن الرطب للمجموع الخضري حيث أعطت عزلتين الفطريتين T 2 وn. A اعلى متوسط بلغ 159.1 و76.5 غم مقارنة بمعاملة المقارنة بلغ 43.5 غم ، . اما الوزن الجاف للمجموع الخضري تميزت معاملتي الفطريين T 2 وn .A بمتوسط بلغ 22.1 و20.8 غم مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغ متوسط الوزن الجاف لها 12.3 غم، اما بالنسبة للوزن الرطب للمجموع الجذري تفوقت جمع عزلات الفطريات المقاومة الاحيائية على معاملة المقارنة في زيادة الوزن الرطب للجذر اذ تميزت عزلتي الفطر يين T2 و A n. بأعلى متوسط للوزن الرطب للمجموع الجذري الذي بلغ 6.66 و 5.26 غم مقارنة بمعاملة المقارنة بلغ 0.51 غم، اما الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات الخيار المزروع في البيت البلاستيكي أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين عزلات فطريات المقاومة الاحيائية في متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري تفوقت جمع عزلات فطريات المقاومة الاحيائية في زيادة الوزن الجاف للجذر حيث تميزت عزلتي الفطريين T2 وn. A بأعلى متوسط للوزن الجاف بلغ 15.02 و0.72 غم على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة بلغ 0.10 غم ، اما معاملات التداخل أيضا تفوقت جميعها على معاملة المقارنة في زيادة الوزن الجاف للجذر حيث تميزت المعاملتين، أثبتت الذهيبي (2006) أن تلقيح أصص شتلات الباذنجان بالفطر *A.niger* عمل على زيادة امتصاص الفسفور من قبل النبات ومن ثم زيادة في المجموع الخضري. (T1 + Mu ، T1 + A.n + Mu) بأعلى متوسط بلغ 1.24 و1.18 غم على التوالي . يعزى سبب ذلك الى ان الفطر *A.niger* له القدرة على إفراز منظمات النمو (IAA، Cytokinins،Gibberellin) التي تحسن من نمو المجموع الجذري وتزيد من كثافة الجذور فضلا عن إنتشار هيفات الفطر من منطقة الرايزوسفير ومن ثم زيادة المساحة السطحية للامتصاص وتركيز الفسفور في منظومة المجموع الجذري ومن

Kumari واخرون (2008) وRajankar واخرون (2007).

جدول (6) الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري لنباتات الخيار المزروعة في البيت البلاستيك

ت	المعاملات	الوزن الرطب للمجموع الخضري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم)
1	T1	64.8	9.3	1.92	0.44
2	Control	43.5	12.3	0.51	0.10
3	T1 + Mu	119.2	30.2	6.30	1.18
4	T1+T2+A.n+Mu	65.6	7.5	2.78	0.48
5	T1 + A.n	93.2	11.3	1.65	0.18
6	Mu + A.n	97.6	4.5	3.72	0.50
7	T2 + A.n	70.4	7.2	4.83	0.52
8	T1 + A.n + Mu	183.9	35.9	5.93	1.24
9	T2	159.1	22.1	6.66	15.02
10	A.n	76.5	20.8	5.26	0.72
11	T1+T2	80.0	12.5	2.63	0.25
12	Mu	60.0	8.3	3.10	0.22
13	T2 +A.n + Mu	58.1	6.7	4.88	0.51
14	T2 + Mu	94.4	4.5	1.44	0.46
L.S.D		**91.09**	**18.19**	**2.655**	**5.507**

تقدير الكلوروفيل في أوراق نباتات الخيار صنف ميمون المزروعة في البيت البلاستيكي

بينت نتائج جدول (7) عدم وجود فروق إحصائية معنوية بين متوسطات عزلات فطريات المقاومة الحيوية في تأثيرها على زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل في نبات الخيار المزروعة في البيت البلاستيكي الا ان هذه الفطريات المقاومة الحيوية كان لها دور إيجابي في زيادة نسبة الكلوروفيل في الأوراق، حيت أعطت معاملة الفطر A.n اعلى متوسط بلغ 11.28 اما اقل متوسط أعطت معاملة الفطر T2بلغ 6.86 مقارنة بمعاملة المقارنة بلغ متوسط محتوى الكلوروفيل فيها 11.19. اما بالنسبة لمعاملات التداخل أعطت المعاملة (T1+ Mu) اعلى متوسط بلغ 12.68 تلتها المعاملة (T1+A.n+Mu) و(T2+A.n) بمتوسط بلغ 12.53 و12.30 على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة بلغت 11.19. يعزى ذلك الى وجود بعض العناصر مثل المغنسيوم والكبريت الاي تساهم في زيادة كمية الكلوروفيل اذ يساهم العنصران في بناء الكلوروفيل (الصحاف، 1989).

ان لوجود الفطريات المقاومة الحيوية دوراً مهماً في زيادة كفاءة التركيب الضوئي من خلال زيادة المساحة الورقية الكلية ومن ثم زيادة إنتاج المركبات الكاربونية التي بدورها تنتقل إلى الجذور ولتساهم في زيادة طول الجذور (Sheng واخرون، 2008) . واكد كثير من الباحثين في قدرة انواع الفطر *Trichodernna sp* في زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل في النبات فقد أشار الطائي (2014) ان هنالك اختلافات احصائية معنوية بين متوسطات العزلات الفطرية الفعالة في تحفيز النمو وتشجيعه في تأثيرها في محتوى الأوراق النسبي من الكلوروفيل عند استعماله انواع من الفطر *Aspergillus sp* والفطر *Trichoderna sp* . في تحفيز وتشجيع نمو نبات الخيار.

جدول (7) تقدير الكلوروفيل في أوراق نباتات الخيار صنف ميمون المزروعة في البيت البلاستيكي

ت	المعاملات	تقدير الكلوروفيل
1	T1	9.64
2	Control	11.19
3	T1 + Mu	12.68
4	T1+T2+A.n+Mu	10.78
5	T1 + A.n	5.81

6	Mu + A.n	8.06
7	T2 + A.n	12.30
8	T1 + A.n + Mu	12.53
9	T2	6.86
10	A.n	11.28
11	T1+T2	11.69
12	Mu	9.14
13	T2 +A.n + Mu	9.48
14	T2 + Mu	9.74
	L.S.D	**N.S**

تقدير انزيم البيروكسديز في أوراق نبات الخيار صنف ميمون المزروعة في البيت البلاستيكي.

نلاحظ من نتائج جدول (8) ان جميع فطريات المقاومة الحيوية كان لها تأثير معنوي في زيادة الفعالية الانزيمية في نبات الخيار، اذ بلغت 0.02067، 0.01667، 0.01667، 0.01533 وحدة/غم وزن رطب للمعاملات A. n، Mu، T.k على التوالي، وأكثر معاملات الفطريات تأثيرا هي المعاملة A. n اما بالنسبة للمعاملات التداخل أعطت المعاملة (T2+ A.n) اعلى قيمة بلغت 0.02000 وحدة/غم وزن رطب تلتها المعاملة (T1+A.n) بلغت 0.01900 وحدة/غم وزن رطب مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت 0.01333 وحدة/غم وزن رطب. اشارت العديد من الدراسات الى قدرة فطريات المقاومة الحيوية على استحثاث المقاومة في النبات ضد المسببات المرضية نتيجة زيادة فعالية انزيم البيروكسديز في النبات، اذ ذكر Sirin (2011) ان معاملة نبات زهرة الشمس بأنواع الفطر *Glomus spp* والفطر *Trichoderma harzianum* ادت الى زيادة فعالية انزيم البيروكسديز ومن ثم زيادة مقاومة النبات ضد الفطر *Rhizoctonia solani* . كذلك وجد ان هناك ارتباط طردي بين فعالية الانزيم البيروكسديز والمقاومة المستحثة في نبات العائل ضد المسببات المرضية (Sharma واخرون، 1984) . كما أكد طه وابراهيم (2010) إلى أن نبات الفاصوليا المعامل بالفطر *T. harzianum* أظهر كفاءة عالية في مقاومة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*عن طرق استحثاث المقاومة نتيجة زيادة انزيمات البيروكسديز والبولي فينول اوكسيديز. لوحظ آن زيادة انزيم البيروكسديز في نبات الفول السوداني groundnut المعامل بالفطر *T. harzianum* استحث المقاومة ضد الفطر *Macrophomina phaseolina* (Sreedevi وآخرون ،2011) . يعمل انزيم البيروكسديز مع بيروكسيد الهدروجين في تكسير انزيمات المسبب المرضي ومنها انزيم Pectinase ومن ثم تثبيط عملية تحطيم الجدار الخلوي للنبات واستحثاث الفايتوالكسينات فضلا عن الدفاعات التركيبية لتقوية الجدران مثل بناء اللكنين كما يتفاعل الانزيم مع البروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار الخلوي (Hibar واخرون ،2007).

جدول (8) تقدير انزيم البيروكسديز في أوراق نباتات الخيار صنف ميمون المزروعة في البيت البلاستيكي

ت	المعاملات	تقدير الانزيم وحدة/غم وزن رطب
1	T1	0.01667
2	Control	0.01333
3	T1 + Mu	0.01733
4	T1+T2+A.n+Mu	0.01667
5	T1 + A.n	0.01900

6	Mu + A.n	0.01433
7	T2 + A.n	0.02000
8	T1 + A.n + Mu	0.01300
9	T2	0.01533
10	A.n	0.02067
11	T1+T2	0.01767
12	Mu	0.01667
13	T2 +A.n + Mu	0.01667
14	T2 + Mu	0.01767
	L.S.D	**0.007595**

تسجيل الامراض التي تصيب المجموع الخضري خلال 3،4،5 اسابيع من الزراعة

سجلت مجموعة من الفطريات التي تصيب المجموع الخضري لنبات الخيار صنف ميمون والمزروعة في البيت البلاستيكي في معاملة المقارنة وبعض المعاملات التي تحتوي تربتها على لقاح الفطريات المقاومة الاحيائية كما موضح في جدول (15) حيث سجل الفطر *Alternaria alternata* والفطر *Nicrosporium* sp على معاملة (Mu+A.n وT1+A.n+Mu وT2) ولم يسجل أي فطر اخر ممرض يصيب المجموع الخضري في بقية المعاملات وهذا دليل واضح في قدرة الفطريات المقاومة الاحيائية في زيادة دفاعات العائل عن طريق تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (مطرود 2018 وMatrood واخرون 2020). وهذا ماثبت من خلال تجربة انزيم البيروكسديز مما ادى الى زيادة مقاومة نبات الخيار لمسببات المجموع الخضري.

جدول (7) الفطريات التي سجلت على المجموع الخضري لنبات الخيار في البيت البلاستيكي

المعاملات	الفطريات التي سجلت على المجموع الخضري
T1	-
Control	*Nicrosporium sp , A. alternata*
T1 + Mu	-
T1+T2+A.n+Mu	-
T1 + A.n	-
Mu + A.n	*Nicrosporium sp , A. alternata*
T2 + A.n	-
T1 + A.n + Mu	*Nicrosporium sp , A. alternata*
T2	*Nicrosporium sp , A. alternata*
A.n	-
T1+T2	-
Mu	-
T2 +A.n + Mu	-
T2 + Mu	-

*لا توجد إصابة فطرية

المصادر :

بشير، عفراء يونس (2003). التداخل بين المايكورايزا والأزوتوبكتر والازوسبيرلم وتأثيره في نمو وحاصل الحنطة. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة جامعة بغداد.

حافظ، حمدية زاير علي (2001) . التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب عن القطر *Macrophorina phaseolina* .

حميد، فاخر رحيم (2002). دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderna spp.* في استحقات المقاومة ضد القطر *Rhizoctonia solani* وتحفيز النمو في اربعة أصناف من القطن . رسالة ماجستير . قسم وقاية النبات . كلية الزراعة جامعة بغداد.

الذهيبي، رباب مجيد عبد (2006). تأثير التلقيح بأنواع الفطريات *Penicillium* و*Trichoderma* و *Aspergillus niger* وتداخلها مع فطر المايكورايزا *Glumus*

mosseae في نمو وانتاج نبات الباذنجان. رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة ديالى.
الصحاف، فاضل حسين. (1989). أنظمة الزراعة بدون استخدام التربة. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق : ص45-47 .
الطائي، أزهر حميد فرج (2014). تأثير بعض انواع الفطر *Aspergillus spp* والفطر *Trichodernia hannatun* في نمو نبات الخيار *Cucumis sativus* المزروع في أوساط زرعية بديلة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة الكوفة. جمهورية العراق .133 صفحة .
الطائي، ازهر حميد فرج وصباح لطيف علوان (2018). الكشف عن انتاج اندول حامض الخميك IAA والجبرليك GA3 في راشح عزلات محلية من بعض الفطريات المحفزة لنمو النبات. مجلة كربلاء الزراعية. وقائع المؤتمر العلمي الثالث 5-6.
طه، خالد حسين وبسام يحيى ابراهيم (2010). طرز حيوية جديدة من *Trichoderna spp* كفوءة في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* في نبات الفاصوليا *lycopersici* by *Trichoderma*spp. *Tunisian J. Plant protect*, 2: Pp 47-58.
Kim, S.H., Terry, M.E. Hoops, P., Dauwalder, M. and Roux, S.J. (1988). Production and characterization of monoclonal antibodies to wall-localized peroxidases from corn seedlings. *Plant Physiology*, 88: Pp 1446–1453. https://doi.org/10.1104/pp.88.4.1446.
Kumari, A.K., Kapoor, K., Kundu, B.S. and Mehta, R.K. (2008). Identification of organig acids producedduring rice straw decomposition and their rolein rock phosphate solubilization. *Plant Soil Environ*, 54 (2): Pp 72-77.
Matrood, A.A., Khrieba, M.I. and Okon, G.O. (2020). Synergistic interaction of *Glomus mosseae* T. and *Trichoderma harzianum* R. in the induction of systemicresistance of *Cucumis sativus* L. *to Alternaria alternate* .*Plant Science Today* 7(1): Pp 101-108https://doi.org/10.14719/pst.2020.7.1.629
Nenwani, V., Doshi, P., Saha, T. and Rajkumar, S. (2010). Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(1):Pp 9-14.
Porra, R.J. (2002).The chequered history of the development and Use of stimulation quantios for the accurate determination of chlorophylls A and Photosynthesis research, 73(1-3): Pp 149-156.
Phaseolus vulgaris. مجلة زراعة الرافدين.38: 101-111.
علي، صادق محمد وعلاء عيدان حسن وعبد عون هاشم الغانمي (2009). أستجابة نبات الطماطة للتلقيح ببعض الأسمدة والمبيدات الاحيائية. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. 1 (2):13-26 .
الكرطاني، عبد الكريم عريبي سبع وصلاح الدين حمادي مهدي الطائي (2011). تأثير التسميد الحيوي بفطر المايكورايزا *Glomus mosseae* والتسميد العضوي بحامض الهيوميك Humic acid والتسميد الكيمياوي في بعض صفات النمو النبات الذرة الصفراء النامية في تربة جبسية. المؤتمر العلمي الخامس لكلية الزراعة - جامعة تكريت.
مطرود، عبدالنبي عبدالامير (2018). تأثير الفطرين *Cheatomum globosum* و *Trichoderma koningii* في نمو نباتات الطماطة وامراض المجموع المزروعة في وسط زرعي مفصول .مجلة الكوفة للعلوم الزراعية .10 (2):79-78.

Al-Garni, S.M., Kabli, S., Al- Shehrei, F. and Al-Ganawi, Z. (2007). Mycoflora associated with some textiles. in Jeddah City. *JKAU*, 19:Pp 93-113.
Altomare, C., Norvell, W.A. Bjorkman, T. and Harman, G.E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol *Tichoderma harzianum* Rifai strain 1295-22. *Appl. Environ Microbiol*, 65 (7): Pp 2926-2933.
Bilkay, I.S., Karakoc, S. and Aksoz, N. (2010). Indole-3-acetic acid and gibberellic acid production in *Aspergillus niger*. *Turk. J. Biol*. 34: Pp 313-318.
Brick, J.M., Bostock, R.M. and Silverstone, S.E. (1991). Rapid *in situ* assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. *Applied Environ. Microbiol*. 57: Pp 535-538.
Fawe , A .,M.Abou Zaid , J . G. Menzies and R. R. Belanger (1998) . Silicon mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. Phytopathology, 88:396 ─ 401.
Gordon, S.A. Weber, R.P (1951). Colorimetric estimation of Indole acetic Acid. Plant Physiol, 26: Pp 192-195.
Harman, G.E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol Change in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis. Rep*, 84 (4): Pp 377-393.
Hibar, K., Daami, M. and Mahjoud, M.El (2007). Induction of resistance in tomato plants aginst *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis*

Rajankar, P.N., Tambekar, D.H. and Wate, S.R. (2007). Study of phosphate solubilization efficiencies of Fungi and Bacteria isolated from saline belt of purna river basin. *Reserach Journal of Agriculture Sciences*, 3(6): Pp 701-703.

Rashid, M., Sarnina, K., Najma, A., Sadia, A. and Farooq, L. (2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing conditions. *Pak. J. Biolog. Sci*, 7: Pp 187-196.

Sharma, J.R., Bedi, P.S. and Singh, P.P. (1984). Peroxidase and Polyphenol oxidase changes in *Fusarium* Wilt resistant and susceptible Cultivars of Cotton. Phytopathology Medit, 23 : Pp 79-80.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B.W., Zhang, F.F. and Huang, Y.H. (2008). Influence of arbuscularmycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*,18:Pp 287-296.

Sirin, U. (2011). Determining the effects of *Trichoderma harzianum* and some mycorrhizal fungi on plant growth and against *Rhizoctania solani* Kühn in Lilium under *in vivo* conditions. *J. of Biotechnology*, 10(67): Pp 15142-15150.

Sreedevi, B.M. Charitha, D. and Saigopal, D.V.R. (2011). Induction of defense enzymes in *Trichoderma harzianum* treated groundnut plants against *Macrophomina phaseolina*. *Journal of Biological Control*, 1: Pp 33–39.

Whitelaw, M.A. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi.Adv. Agron, 69: Pp99-151.

Xiao, C.Q., Chi, R.A., Huang, X.H., Zhang, W.X., Qiu, G.Z. and Wang, D.Z. (2008). Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines. *Ecol. Eng*, 33: Pp 187-193.