



جامعة دمشق

كلية الهندسة الزراعية

قسم وقاية النبات

المكافحة الحيوية للفطر *Rhizoctonia solani* Kühn. المسبب لعفن البطاطا باستخدام
الفطريات المضادة والمتعايشة.

**Biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn, cause of potato rot using
antagonistic and symbiotic fungi.**

دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية - وقاية النبات

إعداد المهندس

معتز عبد الحليم حيدر

إشراف

الاستاذ الدكتور جودة فضول

قسم وقاية النبات

كلية الزراعة - جامعة دمشق

2019

جدول المحتويات

الملخص

أولاً- المقدمة

1-1- تعريف محصول البطاطا

1-2- الموطن الأصلي

1-3- الاستعمال والقيمة الغذائية

1-4- المساحة المزروعة والانتاج العالمي

1-5- أمراض نبات البطاطا

ثانياً- الدراسة المرجعية

1-2- الأهمية الاقتصادية للمرض

2-2- الفطر الممرض *R. solani*

2-2-1- تصنيف الفطر الممرض

2-2-2- الوصف المورفولوجي

2-2-3- دورة الحياة

2-2-4- المجموعات التشابكية للفطر *R. solani*

2-2-5- أعراض الإصابة

2-2-6- طرائق مكافحة الفطر

2-3- مكافحة الحيوية للفطر الممرض *R. solani*

2-3-1- فطريات التريكوديرما *Trichoderma* sp.

2-3-1-1- تصنيف الجنس *Trichoderma*

2-3-1-2- آلية عمل فطريات الجنس *Trichoderma*

2-3-2- الفطريات الجذرية (ميكوريزا)

2-3-2-1- تصنيف الفطريات الجذرية (ميكوريزا)

2-3-2-2- دورة حياة الميكوريزا الداخلية

2-3-2-3- الظروف الملائمة لنمو فطريات الميكوريزا

ثالثاً- مبررات البحث

رابعاً- أهداف البحث

خامساً- مواد وطرائق البحث

1-5- العزل الفطري

1- عزل الفطر الممرض *R. solani*

2- عزل فطريات التريكوديرما *Trichoderma* spp.

3- عزل الفطريات الجذرية (ميكوريزا)

5-2- اختبار فعالية نوعين من الجنس *Trichoderma* في التأثير على الفطر *R. solani* مخبرياً

1- عن طريق التطفل المباشر

2- التضاد الحيوي باستخدام رشاحة نوعين من الجنس *Trichoderma*

5-3- اختبار فعالية عوامل مكافحة الحيوية في التأثير على الفطر *R. solani* المسبب لمرض لقشرة السوداء على البطاطا ضمن الأصص

5-4- التحليل الاحصائي

سادساً- النتائج والمناقشة

1-6- العزل الفطري

6-2- اختبار فعالية نوعين من الجنس *Trichoderma* في التأثير على الفطر *R. solani* مخبرياً

6-3- التضاد الحيوي باستخدام رشاحة نوعين من الجنس *Trichoderma*

4-6- اختبار فعالية عوامل المكافحة الحيوية في التأثير على الفطر *R. solani* المسبب لمرض لقشرة

السوداء على البطاطا ضمن الأصص

1- ارتفاع النبات

2- وزن الدرناات

3- الوزن الرطب للمجموع الجذري

4- الوزن الرطب للمجموع الخضري

5- شدة اصابة السوق

6- شدة اصابة الدرناات

سابعاً- الاستنتاجات

ثامناً- التوصيات والمقترحات

تاسعاً- المراجع

9-1- المراجع العربية

9-2- المراجع الأجنبيةة

الملخص

يعد محصول البطاطا من أهم محاصيل الخضار في العالم، ويصاب هذا النبات بالعديد من الأمراض ولعل أهمها مرض القشرة السوداء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kühn والذي تعود خطورته إلى المدى العائلي الواسع واصابته للنبات بكافة مراحل نموه. ونظراً لأهمية هذا الفطر أجريت هذه الدراسة بغرض اختبار فعالية بعض العوامل الحيوية ضد هذا المسبب المرضي. تمت دراسة فعالية نوعين من الجنس *Trichoderma* (*T. viride* و *T. harzianum*) واختبار رشاحة هذين النوعين ضد الفطر *R. solani* مخبرياً، وتم أيضاً اختبار فعالية فطريات التعايش الجذري (الميكوريزا) ضد الفطر *R. solani* ضمن الأصص. أظهرت نتائج التجارب المخبرية تفوق النوع *T. viride* على النوع *T. harzianum* معنوياً بعد 6 أيام و 9 أيام فيما كانت ظاهرة بعد 3 أيام، كما كانت الفروق معنوية بين الأوقات الثلاثة بالنسبة للنوع *T. harzianum* حيث بلغت نسبة التثبيط 62.82%، 73.33%، 81.11% على التوالي. كما تفوقت رشاحة النوع *T. viride* في تثبيط الفطر *R. solani* في التركيزين المستخدمين (91.1%، 93.3%) معنوياً على رشاحة النوع *T. harzianum* (60.8%، 82.2%) كما تبين زيادة كفاءة التثبيط للنوع *T. harzianum* عند مضاعفة التركيز. أظهرت نتائج تجربة الأصص تحفيز العوامل الحيوية لنمو النبات حيث ساهمت في زيادة ارتفاع النباتات والوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري ووزن المحصول، كما بيّنت النتائج تفوق فطريات الميكوريزا على النوعين *T. harzianum* و *T. viride* في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة على السوق حيث بلغت (25%، 33.3%، 41.7%) على التوالي، أما عند إضافة العوامل الثلاثة مجتمعة انخفضت شدة الإصابة بشكل معنوي إلى (11.44%). إضافة لذلك انخفض عدد الأجسام الحجرية على الدرنات بوجود العوامل الحيوية بشكل مشترك حيث وصلت نسبة شدة الإصابة إلى (7.04%) وتفوقت معنوياً على المعاملات التي تم فيها إضافة كل عامل على حدى، كما تبين أن وجود المبيد الكيميائي مونكت بشكل مشترك مع العامل الحيوي عزّز من دور هذه العوامل في خفض شدة الإصابة.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma harzianum* ، *Rhizoctonia solani* ، *T. viride* ، Mycorrhiza

Abstract

Potato is one of the most important vegetable crops in the world. This plant is infected by many diseases, the most important of them is the black scurf which is caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. This pathogen has wide range of hosts and infects the plant in all stages of growth. This study was carried out to test the effectiveness of two species of *Trichoderma* and their filtrates as biological agents against *Rhizoctonia solani* Kuhn in vitro. Also, mycorrhizae were tested as symbiotic against *R. solani* in pots. The results showed that *T. viride* was significantly superior than *T. harzianum* after 6 and 9 days while it was apparent after 3 days. The differences were significant after three readings for *T. harzianum*, inhibition percentage was 62.82%, 73.33% and 81.1% respectively. Filtrate of *T. viride* was significantly superior in both concentrations (91.1% and 93.3%) than filtrate of *T. harzianum* (60.8% and 82.2%) for inhibition of *R. solani* and effectiveness of *T. harzianum* increased when the concentration was doubled. The results of the pot experiment showed that biological agents stimulated the plant growth and increased the height of plant, wet weight of the root and vegetative growth and crop production. The results have also shown that mycorrhizal fungi were significantly superior than *T. viride* and *T. harzianum* in reduction of the percentage of severity infection on stem (25%, 33.3% and 41.7% respectively). When three biological agents were added, the severity infection reduced significantly to (11.44%), as well the number of sclerotia on tubers decreased, and percentage of severity infection on tubers reduced to 7.04% and was superior on other treatments significantly. Addition of the fungicide Moncut with biological agents supported the role of these agents in reducing the infection severity.

Keyword: *Rhizoctonia solai*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, Mycorrhiza

أولاً: المقدمة

1-1- تعريف محصول البطاطا:

تعد البطاطا *Solanum tuberosum* L. من أهم محاصيل الخضار في العالم العربي، وفي عدد من دول العالم خاصة الأمريكيتين و أوروبا . ويرجع ذلك لوفرة غلتها ورخص انتاجها وتنوع الظروف البيئية التي تنمو فيها (بوراس، 1993) ، وتتبع البطاطا للفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* ؛ ويميز من النوع *tuberosum* تحت نوعين هما: *S. tuberosum andigena* ثنائي الصيغة الصبغية diploid الذي تكيف مع ظروف النهار القصير، و *S. tuberosum tuberosum* رباعي الصيغة الصبغية tetraploid الذي تكيف مع ظروف النهار الطويل ويُزرع في جميع أنحاء العالم (Spooner et al., 2014).

1-2-الموطن الأصلي:

الموطن الأصلي للبطاطا هو أمريكا الجنوبية (تشيلي ، البيرو ، والمكسيك) ثم نقلت من أمريكا الجنوبية إلى أوروبا (بوراس ، 1993). إلا أن الدراسات الحديثة أوضحت بأدلة جديدة أن البطاطا نقلت من أمريكا الجنوبية إلى جزر الكناري أولاً ثم إلى اسبانيا (Hawkes and Francisco-Ortega , 1993).

1-3-الاستعمال والقيمة الغذائية:

تعد البطاطا غذاءً أساسياً في العالم وتدخل في كثير من الصناعات الغذائية وتعطي كمية كبيرة من الطاقة أكثر من المحاصيل الأخرى (Khan and Haque, 1994)، تستعمل درنات البطاطا للغذاء المباشر وفي الصناعات الغذائية مثل تصنيع الشيبس (Stivers, 2005)، تحتوي البطاطا على كمية كبيرة من الأحماض الأمينية الحرة الضرورية لبناء الجسم مثل التيروسين والليسين والأرجينين والهستيدين؛ بينما تعتبر البطاطا فقيرة بالحامضين الأميين الميثيونين والسيستين (Smith, 1968)، وتتميز بقيمتها الغذائية العالية من الكربوهيدرات والفيتامينات، حيث تحوي درنة متوسطة الحجم في قشرتها 27 مغ من فيتامين C، و 620 مغ من البوتاسيوم، و 0.2 مغ من فيتامين ب 6 وكميات ضئيلة من الثيامين B₁، الريبوفلافين B₂، الفولات، النياسين B₃، المغنيزيوم، الفوسفور، الحديد، والزنك (FAO, 2008).

1-4-المساحة المزروعة والانتاج العالمي:

تأتي البطاطا في المرتبة الثالثة كمحصول غذائي على مستوى العالم بعد كل من القمح والأرز (FAOSTAT, 2013)، وتقيد احصائيات منظمة الأغذية والزراعة الدولية FAO (2017) أن المساحة الاجمالية المزروعة بالبطاطا في العالم بلغت نحو 19302642 هكتار بغلة 201108 كغ/هكتار، وتأتي سوريا في المرتبة الخامسة بين الدول العربية من حيث المساحة المزروعة بالبطاطا بعد الجزائر والمغرب ، ومصر، والعراق. بلغت المساحة المزروعة بالبطاطا في سوريا في عام 2016 نحو 22369 هكتار وأعطت انتاجاً يقدر بحوالي 507384 طن (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2016).

وتقيد إحصائيات وزارة الزراعة في سورية أن المساحة الاجمالية المزروعة بمحصول البطاطا في مختلف العروات في عام 2016 موزعة على النحو التالي :

أ- عروة خريفية : 7651 هكتار أعطت 145870 طن بغلة 19066 كغ / هكتار

ب- عروة ربيعية: 13526 هكتار أعطت 326354 طن بغلة 24128 كغ/ هكتار

ج- عروة صيفية : 1192 هكتار أعطت 35160 طن بغلة 29504 كغ/ هكتار .

مساحة وانتاج محصول البطاطا خلال عدة سنوات في سورية حسب احصائية وزارة الزراعة

العام	المساحة الهكتار	الانتاج الطن	الغلة كغ/هـ
2007	31083	570128	18342
2008	36172	720492	19918
2009	34855	705586	20243
2010	34467	673183	19531
2011	35249	713256	20235
2012	34012	698129	20526
2013	22439	441718	19685
2014	29878	539611	18060
2015	22876	505249	22087
2016	22369	507384	22683

1-5- أمراض وآفات نبات البطاطا:

يتعرض نبات البطاطا للإصابة بمجموعة كبيرة من الأمراض ومن أهمها:

أ- الأمراض الفطرية: نذكر منها:

Phytophthora infestans Montagne

اللفحة المتأخرة

Alternaria solani Sorauer

اللفحة المبكرة

Verticillium albo-atrum Reinke&Berthold الذبول الفيرتسليومي

Fusarium solani Mart. الذبول الفيوزاريومي

Rhizoctonia solani Kühn تقرح ريزوكتونيا والقشرة السوداء

Sclerotinia sclerotiorum Lib. عفن الساق أو العفن الأبيض

ب- الأمراض الجرثومية:

Streptomyces scabies Lambert & Loria الجرب العادي

Erwinia caratovora var. *caratovora* Winslow العفن الطري (البكتيري)

Pseudomonas solanocearum Smith العفن البني

Erwinia caratovora var. *atroseptica* Hellmers& Dowson الساق الاسود

ج- الأمراض الفيروسية:

(P V Y) J.A de Bokx and C.B.Bus فيروس البطاطا Y

(P V X) J.A de Bokx and C.B.Bus فيروس البطاطا X

POTATO LEAF ROLL VIRUS (PLRV) فيروس التفاف أوراق البطاطا

J.A de Bokx and C.B.Bus

(PVA) J.A de Bokx and C.B.Bus فيروس البطاطا A

(PVM) J.A de Bokx and C.B.Bus فيروس البطاطا M

(PVS) J.A de Bokx and C.B.Bus فيروس البطاطا S

ثانياً: الدراسة المرجعية

2-1- الأهمية الاقتصادية لمرض القشرة السوداء:

هناك العديد من الفطريات التي تسبب أضراراً اقتصادية وتلفاً للمحاصيل وتعفن البذور وموت البادرات ومن هذه الفطريات *Rhizoctonia solani* Kühn (Ceresini, 1999) الذي يسبب مرض القشرة السوداء في البطاطا (فضول، 1991)، يعد هذا المرض على البطاطا من المشاكل الرئيسة الأكثر شيوعاً في إنتاج المحصول وينتشر في مساحات واسعة محدثاً بذلك خسائر اقتصادية كبيرة في أسواق الاستهلاك وفي برامج اصدار شهادات البذار وفي استمرار التصدير (Frank, 1981)، وتعود خطورة الفطر المسبب لهذا المرض إلى المدى العائلي الواسع وانتشاره في كل المساحات المخصصة للزراعة (Carling et al., 1989) كما يسبب أمراضاً للنبات في مراحله المختلفة من النمو (Harikrishnan and Yang, 2004) حيث يصيب العديد من العوائل النباتية ومنها أنواع الفصيلة القرنبيطية Brassicaceae والفصيلة الباذنجانية Solanaceae والفصيلة الخبازية Malvaceae والفصيلة الفولية Fabaceae، وتقدر نسبة الخسائر الناتجة من الإصابة بهذا الفطر (55%) فقد وصلت الخسائر الاقتصادية في جنوب استراليا إلى ما يقارب 77 مليون دولار سنوياً (Anon, 2008)، أما في المناطق السورية فأثبتت الدراسات انتشار المرض في معظم مناطق زراعة البطاطا حيث بلغ المتوسط العام لنسبة الإصابة بالمرض خلال العروة الخريفية 60.46%، وكانت أعلى نسبة للإصابة في محافظة إدلب (63.63%)، تلتها محافظة حلب (63.15%)، ثم محافظة حماه (62.5%)، أما في العروة الربيعية كانت نسبة الإصابة أعلى منها في الخريفية بمتوسط نسبة إصابة 64.19%، وكانت أعلى نسبة للإصابة في هذه العروة في محافظة حلب (82.14%)، في حين كانت (68.42%) في محافظة إدلب، و62.5% في محافظة حماه، وكانت أقل نسبة إصابة في محافظة حمص (16.66%)، في حين لم تسجل أي إصابة في محافظة الحسكة (عبدو وآخرون 2012).

2-2- الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* Kühn

2-2-1- تصنيف الفطر:

ينتمي الفطر *R. solani* Kühn إلى الفطريات الدعامية متعددة الأنوية التي تتميز بالتكاثر اللاجنسي وتحافظ على حيويتها في الطبيعة بواسطة المشيجة و/ أو الأجسام الحجرية، وهي لا تنتج الأبواغ اللاجنسية (الأبواغ الكونيدية) ويمكن أن تنتج الأبواغ الجنسية (الأبواغ الدعامية) (Naito, 1996).

والطور الجنسي (الدعامي) لهذا الفطر هو: *Thanatephorus cucumeris* وتصنيفه وفق ما يلي:

Kingdom: *Fungi* مملكة:

Phylum: *Basidiomycota* شعبة:

Class: *Agaricomycetes* صف:

Order: *Cantharellales* رتبة:

Family: *Ceratobasidiaceae* عائلة:

Genus: *Thanatephorus* الجنس:

Species: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk النوع:

أما الفطر *Rhizoctonia solani* يتبع المشائج العقيمة (*Mycelia sterilia*)

Agonomycetes

Genus: *Rhizoctonia*

Species: *R. solani* Kühn

2-2-2- الوصف المورفولوجي:

يرتكز التوصيف المورفولوجي للفطر *R. solani* على مجموعة من الصفات الشكلية للمشيجة والهيئات ونمط التفرع بالقرب من الحاجز الطرفي وتضييق قاعدة الفرع، وعدم وجود الوصلات المخيلية، والتصنيف (التدرج باللون بالبنّي)، وعدد الأنوية في خلايا الهيئات (Parmeter, 1970; Sneh *et al.*, 1996; Lees *et al.*, 2002). أظهرت الهيئات تدرجاً في اللون البنّي وذلك تبعاً للعمر فتلونت المستعمرات الفتية بلون بني شاحب أو أصفر باهت، في حين أن هيئات المستعمرات القديمة تدرجت من اللون البنّي إلى البنّي القاتم (Parmeter, 1970; Guleria *et al.*, 2007).

يبلغ قطر الهيئات أكثر من 7 μm وهي مقسمة إلى خلايا متعددة النوى، تتفرع الهيئات بزوايا قائمة 90° فيما بينها مع وجود جدر فاصلة قرب تشعبات الهيئات، كما يشكل الفطر أجساماً حجرية بأشكال غير منتظمة و بلون بني إلى بني مسود (Parmeter and Whitney 1970; Ogoshi 1987). وبالإضافة إلى ذلك، فإن خلايا هيئات *R. solani* لها أنوية متعددة، وعادة ما تكون من أربعة إلى ثمانية في كل خلية، على عكس الفطريات النموذجية التي تحوي على نواتين فقط لكل خلية. وقد أصبحت خاصية تعدد الانوية لـ *R. solani* طريقة موثوقة للتصنيف الأولي للفطر (Parmeter, 1970; Sneh *et al.*, 1996).

2-2-3- دورة الحياة:

ينمو الفطر على مجال واسع من درجات الحرارة 8-35°م وتعتبر الدرجة (18م) هي المثلى لنمو الفطر، وهو من الفطريات المستوطنة في التربة والتي يمكنها أن تعيش لسنوات طويلة بغياب عائلها بفضل وجود الأجسام الحجرية التي تتحمل الظروف البيئية غير المناسبة وقد يقوم الفطر بتشكيل ما يسمى الميسيليوم المعمر والذي يكون بلون بني وتتصف خلاياه بسماكة جدرها ويبقى في التربة أيضاً (Allen, 1997).

تبدأ العدوى بواسطة الهيئات الناتجة عن انبات الجسم الحجري حيث تنجذب إلى العائل المناسب بفضل افرازات كيميائية تتحرر من النبات مثل الأحماض الأمينية والسكريات والأحماض العضوية والفينولات (Keijer, 1996) تتم عملية اختراق الفطر لبشرة النبات العائل إما مباشرة أو عن طريق الفتحات الطبيعية، بعد

ملازمة الهيفات للنبات تبدأ بالنمو فوق سطح النبات، يدخل الفطر إلى النبات بنشاط من خلال ايجاد نقطة ضعف على السطح حيث يستطيع الفطر أن يطلق أنزيمات تقوم بتحطيم جدر الخلايا النباتية وتساهم في عملية العدوى والاختراق مثل cutinases (Baker and Bateman, 1978) وpectinases (Peltonen, 1995) xylanases و(Bertagnolli *et al.*, 1996; Jayasinghe *et al.*, 2004)، حيث يشكل أقرص الالتصاق Appressoria التي تخترق طبقة القشيرة وجدر خلايا البشرة (Demirci and Döken, 1998). بعد نجاح الفطر باصابة النبات يبدأ بالنمو داخل الخلية مؤدياً إلى حدوث أضرار في النسيج المصاب وهذا يؤدي إلى ظهور أعراض مختلفة مترافقة مع المرض مثل التعفن وذبول النبات (Demirci and Döken, 1998). قد تتعرض البراعم المتشكلة على الدرنات للإصابة قبل ظهورها مما يؤدي إلى موت قمم البراعم، وتؤثر في نمو النباتات وفي إنتاجية النباتات، ولا تعطي الدرة في حال العدوى الشديدة أي ساق بل سوقاً زاحفة فقط، مما ينتج عنه عدداً محدوداً من الدرنات الصغيرة (Wharton *et al.*, 2007).

تشكل الفطريات في وقت متأخر من موسم النمو أجسام حجرية طرية القوام وبلون بني قاتم أو أسود والتي تعرف باسم القشرة السوداء والتي تسبب ضرراً فيزيائياً للدرنات وتسبب تشوهها مما يؤدي إلى انخفاض القيمة التسويقية لها (Woodhall *et al.*, 2008)، وتعد العلامة المميزة للعدوى لـ *R. solani*. كما يمكن أن ينتج عن الإصابة بهذا المرض انخفاضاً في عدد الدرنات وتشوهها وتشققها (Fiers *et al.*, 2010)، تعد الأجسام الحجرية المحمولة على الدرنات المعدة للزراعة هي المسؤولة عن انتشار المسبب المرض لمسافات بعيدة (Justesen *et al.*, 2003).

2-2-4- المجموعات التشابكية (AG) للفطر *R. solani* :

يتضمن الفطر *R. solani* مجتمعا متبايناً (مجموعة عزلات ، سلالات) متبايناً يعرف باسم المجموعات التشابكية (Yanar *et al.*, 2005) ويتم من خلالها تصنيف العزلات بالاعتماد على تفاعم هيفاتها ، حيث قسّم Matsumoto وزملاؤه (1932) تفاعمات الهيفات إلى أربعة طرز: 1- التفاعم التام-2- التفاعم غير التام-3- التفاعم التلامسي-4- عدم وجود رد فعل.

1- التام: يحدث الالتحام التام عند اقتران عزلتين حيث يتم اختراق الجدر واللتحام تام لأغشية الخلية وللسيتوبلازما ولا يمكن رؤية مواقع نقاط الالتحام، ويمكن أن تموت الخلايا الملتحمة والمجاورة ولكن بشكل عام لا تموت.

2- غير التام: يحدث من خلال اختراق الجدر والاندماج غير التام لأغشية الخلية وللسيتوبلازما ويمكن رؤية مواقع نقاط الالتحام، وفي هذه الحالة دائماً تموت الخلايا المشتركة والمجاورة لذلك يسمى بالتفاعل القاتل.

3- التلامسي: يحدث عند وجود اتصال بين الهيفات دون حدوث اختراق للجدر أو اتصال بين الأغشية، وفي هذه التفاعلات غالباً ما تموت خلية واحدة أو كليهما من الخلايا المتلامسة والخلايا المجاورة. تنتمي العزلات إلى نفس المجموعة التشابكية (AG) عندما يحدث الاندماج بين الهيفات المتقابلة، لكن عدم حدوث الاندماج يشير إلى أن العزلات تنتمي إلى AG مختلفة (Anderson, 1982; Carling, 1996;) (Carling *et al.*, 2002b).

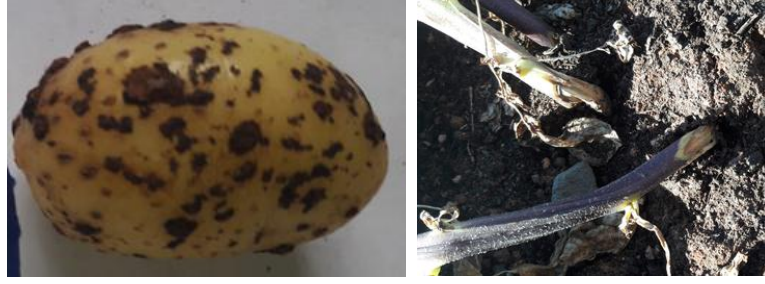
وقد اقترح Schultz (1936) مخططاً لتقسيم النوع *R. solani* بالارتكاز إلى تشابك الهيفات Anastomosis، حيث يوجد للفطر 12 مجموعة اندماج خيطي (Carling *et al.*, 1994) . فقد وصف Parameter وآخرون (1969) أربع مجموعات تشابكية (AG1 حتى AG4). وأكد Ogoshi (1975) المجموعات التي وصفها Parmeter ولكنه قسم AG2 إلى تحت مجموعتين AG2-1 و AG2-2 كما أضاف مجموعة جديدة (AG 5) ، ووصف Kuninaga وآخرون (1978) مجموعتين تشابكيتين إضافيتين AG6 مجموعة التجسير AG-bridging)BI والتي تتحد أحياناً مع كلٍ من المجموعات (AG2-1، AG3، AG6، AG8)، كما وصف Homma وآخرون (1983) المجموعة AG7 ، ووصف Neate وآخرون (1985) المجموعة AG8، كما

وصف Carling وآخرون (1987) المجموعة AG9، ووصف Ogoshi وآخرون (1990) المجموعة AG10، كما وصف Carling و Sumnar (1992) المجموعة AG11، ووصف Carling وآخرون (1996) المجموعة AG12. وهناك أيضاً المجموعة AG13 التي تسبب ضرراً بسيطاً على الشعير والقرنبيط والخس والبطاطا والفجل وذلك ضمن ظروف المختبر والدفينة (Carling *et al.*, 2002). من بين هذه المجموعات كانت المجموعة الثالثة (AG3) هي التي تصيب نباتات البطاطا وتوجد خلال مراحل نمو النبات كافة، يمكن لمجموعات أخرى أن تكون ممرضة للبطاطا لكنها تسبب عادةً ضرراً أقل من المجموعة الثالثة، كما أن لبعضها مقدرة محدودة على إصابة أجزاء معينة من نبات البطاطا (Rauf *et al.*, 2007)

2-2-5- أعراض الإصابة:

يسبب هذا الفطر مرض القشرة السوداء وتقرح الساق وهو من الأمراض كثيرة الانتشار على البطاطا في المناطق معتدلة الحرارة من العالم و يوجد في معظم أنواع التربة (بياعة، 1991؛ فضول، 1991)

تظهر أعراض الإصابة بهذا الفطر الممرض على سطوح الدرنات بتكوين أجسام حجرية مسودة مسطحة غير منتظمة غالباً ، يمكن ازلتها بسهولة بأظافر اليد ، و تنتشر على سطح الدرنه معطية اياها لوناً أسوداً و تنتشر الإصابة من هذه الاجسام إلى الساق مسببة تقرحه حيث يظهر التقرح في البداية من جانب واحد و تخرب اللحاء، و عند اشتداد الإصابة و زيادة الرطوبة يحيط التقرح بكامل الساق وهذا يؤثر بدوره على مرور المواد الكربوهيدراتية إلى الدرنات فينشأ عن ذلك تقزم النموات الخضرية التي تعلوه والتفاف الأوراق ثم ذبول النبات وسقوطه على الأرض، قد يترافق المرض بتشكيل درنات هوائية على السوق المصابة (فضول، 1991) ، وعند إنبات البراعم تعطي نموات خضرية مسودة طرية تجف وتموت، وفي الفترات الرطبة يمتد الفطر سريعاً ليكون سواراً عنكبوتياً أبيضاً يحيط بقاعدة الساق الهوائية والأرضية مؤدياً الى عدم تكوين الدرنات. (بياعة، 1991).



شكل 2: أعراض الإصابة بالفطر *R. solani* على البطاطا

2-2-6- طرائق مكافحة الفطر الممرض *R. solani*

أ- من الطرائق الزراعية المتبعة في مكافحة الفطر :

- 1- زيادة نسبة المادة العضوية في التربة
- 2- اختيار الدرنات السليمة للزراعة
- 3- عدم زراعة الدرنات على أعماق كبيرة
- 4- اتباع دورة زراعية طويلة الأمد .

ب- المكافحة الكيميائية: يمكن تطهير الدرنات المعدة للزراعة بغمرها بمحلول الفورمالين تركيز 0.8% والمسخن لدرجة حرارة 52°س لمدة 3 دقائق (فضول، 1991)، كما يمكن استخدام بعض المبيدات الفطرية بمعاملة الدرنات مثل الفابام ، بنتاكلورونتروبنزين (P.C.N.B) و الرايزولكس.

نسعى في نظم الزراعة المستدامة جاهدين للتقليل من استخدام المبيدات الكيميائية و تحسين استخدام استراتيجيات إدارة بديلة لمكافحة مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة (Harrier and Watson, 2004)، لذلك نسعى إلى ايجاد وسائل أو بدائل أخرى آمنة للمكافحة مثل المكافحة الحيوية.

2-3- المكافحة الحيوية للفطر الممرض *R. solani*

تعتبر المكافحة الحيوية من أهم الطرائق المستخدمة في السيطرة على الفطر الممرض *R. solani* حيث أن هناك العديد من الكائنات الحية الدقيقة التي تتطفل على الأنواع التابعة للجنس *Rhizoctonia* مثل الأنواع التابعة

للأجناس التالية: *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Gliocladium* , إضافة إلى الفطريات المتعايشة (Mycorrhizae) (Azcon and Barea, 1996; Mercier and Manker, 2005) .

2-3-1- فطريات التريكوديرما *Trichoderma* :

2-3-1-1- تصنيف الفطر:

وصف لأول مرة منذ أكثر من مائة عام، ويصنف هذا الفطر كما يلي:

Kingdom: *Fungi* : مملكة

Class: *Ascomycetes* : صف

Order: *Hypocerales* : رتبة

Family: *Hypocereaceae* : عائلة

Genus: *Trichoderma* (Rifai, 1969) : الجنس

يحتوي هذا الجنس على مجموعة من الأنواع المنتشرة في بقاع كثيرة من العالم، ومن السهل عزل أنواع هذا الفطر من التربة والمواد العضوية المتحللة فهي تتواجد في الأراضي المزروعة وغير المزروعة والغابات ويمكن تنمية هذه العزلات على الكثير من الأوساط الصناعية وتنتج أعداداً كبيرة من الأبواغ الكونيدية الصغيرة الخضراء أو البيضاء من خلايا مولده (Conidiogenous) تقع في نهايات التفرعات العديدة للحوامل الكونيدية، تنتشر الأنواع في كل الترب وتتواجد عند مستوى الجذور وتتميز بعض السلالات بالكفاءة العالية في الانتشار بالمحيط الجذري (Grondona *et al.*, 1997).

قسّم العالم Rifai (1969) الجنس *Trichoderma* إلى تسعة أنواع على أساس الصفات المورفولوجية، وأعاد Bisset (1991) دراسة الجنس وأضاف إليه بعض الأنواع ذات الأشكال المتقاربة. يمكن التمييز بين أنواع

هذا الجنس من خلال الموصفات المزرعية، شكل وتفرعات الحوامل الكونيدية، لون وشكل وأبعاد الكونيديا، سرعة النمو (Webster, 1964; Rifai, 1969) .

تُظهر العديد من الكائنات الحية الدقيقة بما فيها الفطريات تأثيراً مضاداً للفطر *Rhizoctonia solani*. يتبع للأجناس *Gliocladium* و *Trichoderma* العديد من الأنواع التي تمتلك خاصية التطفل الفطري وتعتبر عناصر مكافحة حيوية جيدة ضد مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة والبذور (Erkol et al., 2011) ، وذكر El-kafrawy (2002) أن عزلات من فطريات *Trichoderma* و فطريات *Gliocladium* أدت إلى تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani* بنسبة 59.6-78.9 % .

تتضمن عموماً المثبطات الفعالة للفطر *R. solani* و الموجودة بالتربة أنواعاً فطرية عديدة تتبع الجنس *Trichoderma* والتي يمكن أن تتطفل على هيفات مشيخة الفطر الممرض تطفلاً خارجياً (Chet and Baker, 1981)، حيث توصل Sharma (2011) إلى أن 18 عزلة من الجنس *Trichoderma* (T1 إلى T18) أظهرت كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *F.oxysporum f.sp. pisi* الذي يسبب مرض ذبول البازلاء أثناء الاختبار الذي أجراه بطريقة الزراعة المزدوجة على أطباق بتري تحتوي الوسط PDA ، إضافة لذلك فقد أثبتت الدراسات أن أنواعاً كثيرة تابعة للجنس *Trichoderma* لها القدرة على تحفيز وتنشيط المقاومة الجهازية للنبات (Hanson, 2000; Hoitink et al., 2006) وتفيد في تحسين نمو النباتات وزيادة الوزن الجاف والرطب لهذه النباتات (Ousley et al., 1994).

يوجد ضمن الجنس *Trichoderma* أنواع عديدة مثل *T. harzianum* ، *T. reesei* ، *T. virens* ، *T. hamatum* ، *T. viride* وقد أثبتت هذه الأنواع قدراتها التضادية الفعالة ضد الفطر *R. solani* على البطاطا في البيت المحمي والحقل، كما تشير الدراسات بأن النوع *T. harzianum* هو الأكثر شيوعاً ودراسة حيث

أظهر فعالية عالية وعلى درجات حرارة متفاوتة ضد الفطر *R. solani* الذي يصيب البطاطا (Ristaino and Papavizas, 1995).

يعد الفطر *T. viride* يعد من الفطريات المعروفة حالياً في مكافحة الحيوية لطيف واسع من المسببات المرضية التي تنتقل عن طريق التربة (Poldma et al., 2000) ، كما وجد كلاً من Ahamed و Srivastava (2000) أن المكافحة الحيوية عن طريق معاملة البذور أو معاملة التربة بالفطر *T. viride* في البيت المحمي أعطت نتائج جيدة في مكافحة ضد مرض العفن الجاف على اللوبياء وكانت معاملة التربة والبذور معاً أكثر فعالية.

وقد أكد Gromovikh وزملاؤه (1998) أن الفطر *Trichoderma harzianum* له القدرة على تثبيط العديد من الفطريات مثل : *Pythium spp.* ، *Alternaria spp.* ، *Botrytis spp.* ، *Fusarium spp.* التي تسبب عفنا في جذور النباتات، بالإضافة لذلك كان للفطر *Trichoderma harzianum* دوراً مميزاً وناجحاً في مكافحة فطر *Fusarium oxysporum* على بادرات البندورة تحت ظروف البيت المحمي إضافة إلى زيادة إنتاج المحصول.

كما وجد أن الفطر *Trichoderma harzianum* من أكثر الفطريات فعالية في مكافحة مرض عفن الجذور المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* على الفاصولياء داخل البيت المحمي، حيث أدى إلى تخفيض نسبة موت البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة (Mathew and Gupta, 1998)، وأشار EL-kot (2008) إلى فعالية الفطر *T. harzianum* في خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض القشرة السوداء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* على البطاطا. كما وأظهرت نتائج اختبار التضاد الذي أجراه Erkol وزملاؤه (2011) أن الفطر *T. harzianum* تسبب في تثبيط نمو مشيعة الفطر *R. solani* على وسط PDA وكان قادراً على النمو فوق مشيعة الفطر الممرض.

أمكن مكافحة مرض ذبول بادرات التبغ الذي يسببه كل من الفطرين *Sclerotium rolfsii* و *Pythium aphanidermatum* عند معاملة التربة بواسطة عزلة من الفطر *T. harzianum* وأمكن مكافحة الفطر *P. aphanidermatum* عند معاملة بذور الباذنجان بواسطة الفطر *T. harzianum* عند تركيز 5×10^9 بوغاً/مل (Windham *et al.*, 1986; Sharif *et al.*, 1988; Ercole *et al.*, 1988; and Jacob *et al.*, 1988).

أدى استخدام النوعين *T. harzianum* و *T. viride* بصورة منفردة أو بشكل خليط مع المستحضرين الجرثوميين *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* إلى حدوث تثبيط معنوي في نمو المشيجة للفطريات المسببة لسقوط بادرات البامياء وتعفن جذورها ، وحدث أعلى تثبيط مع خليط *T. harzianum* و *P. fluorescens* الذي أدى إلى منع نمو الفطرين *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* بنسبة 100% (الشي، 2013). وأشار الحمداني (2009) إلى أن الفطر *T. viride* قد ثبت بكفاءة نمو الفطريات الممرضة *M. phaseolina* ، *F. solani* ، *R. solani* ، *Pythium aphanidermatum* المسببة لموت البادرات وتعفن الجذور، كما أجرى Abdel-kader (2012) تقييماً للعوامل الحيوية *T. harzianum* و *T. viride* ، *B. subtilis* ، *P. fluorescens* وأكد كفاءتها في مكافحة الفطريات الممرضة المسببة لأمراض الذبول والتعفن المذكورة سابقاً مضافاً إليها الفطر الممرض *F. oxysporum*.

وجد عدد من الباحثين قدرة الأنواع التابعة للجنس *Trichoderma* على افراز أنزيمات محللة ومضادات حيوية مثل المركبات: Viridin، Trichoviridine وافراز مواد أيضية غازية مثل الأسيتالدهيد Acetaldehyde ذات تأثير تثبيطي في نمو عدد من الفطريات الممرضة (Harman, 2000)، وأشار Vinale وزملاؤه (2008) إلى أن أنواع الفطر *Trichoderma* تنتج العديد من المضادات الحيوية من ضمنها Gliotoxin، Harzianic acid، Trichoviridine، viridol، Alamethicins وهذه المضادات تكون مؤازرة عندما ترتبط بالأنزيمات المختلفة

المحللة للجدار الخلوي وهكذا تحدث تأثيراً مثبتاً للعديد من مسببات المرضية، علاوة على امتلاكها القدرة على تحليل هيفات المسبب المرضي بإنتاج أنزيمات محللة مثل أنزيمات الكيتيناز chitinase، والبروتياز protease، والغلوكاناز B-1,3-Glucanase وهذه تعتبر أداة مهمة فعالة لمكافحة أمراض النبات (Viterbo *et al.*, 2007)، كما بين Karsa وزملاؤه (2010) أن استخدام الفطر *T. harzianum* لمقاومة الفطر الممرض *R. solani* على نبات البطاطا أدى إلى استحداث نوعين من الأنزيمات التي تقوم بتنشيط أنزيمات الفطر الممرض وهما: chitinase و B-1,3-Glucanase.

2-1-3-2- آلية عمل الفطر *Trichoderma*

يمكن القول أن آلية عمل الأنواع التابعة للجنس *Trichoderma* تعود إلى واحد أو أكثر مما يلي:

- 1- التضاد الحيوي Antagonism: يحدث التضاد من خلال التفاعلات الناتجة عن المركبات القابلة للانتشار ذات الوزن الجزيئي المنخفض أو المضادات الحيوية المنتجة من قبل سلالات *Trichoderma* التي تثبط نمو الكائنات الحية الدقيقة الأخرى. تنتج معظم سلالات *Trichoderma* سموماً (Toxins) طيارة وغير طيارة تعيق نمو المستعمرة الفطرية، تفرز أنواع الفطر *Trichoderma* الكثير من المضادات الحيوية ومن أمثلتها:

- Trichdermol ويفرزه الفطر *T. polysporum*
- Harzianum acid ويفرزه الفطر *T. harzianum*
- Harziandione ويفرزه سلالات الفطر *T. harzianum*
- 6-pentyl-2-pyrone ويفرزه الفطر *T. harzianum* السلالة (M275950)
- Pyridine ، Harziano ، Pyridone ويفرزه السلالة (M29837)

- Viridian، Gliovirin ، Hyptelidic ، Polyketides وغيرها (Vey *et al.*, 2001) .

2- التطفل الفطري Mycoparasitism : تم توثيق طريقة تطفل فطر التريكوديرما على المشيعة الفطرية للعديد من الفطريات المنقولة بالتربة (Chet *et al.*, 1981; Dennis and Webster, 1971a) ، حيث تنمو هيفات الفطر مباشرة باتجاه هيفات الفطر الممرض وتلتف حوله وتقوم بحل الجدر الخلوية للفطر المستهدف بواسطة افراز أنزيمات حلمهة مختلفة وبالتالي تحد عملية التطفل هذه من نمو ونشاط الفطر الممرض للنبات. تقسم الأنزيمات التي يفرزها فطر التريكوديرما والتي تساعده في عملية التطفل بواسطة تحليل الجدر الخلوية إلى ثلاث أنزيمات:

- أنزيم كيتيناز: الذي يقوم بتحليل الكيتين (El-Katatny *et al.*, 2001)

- أنزيمات غلوكاناز: الذي يثبط انبات الأبواغ ونمو الممرضات

- أنزيم بروتياز: يعمل هذا الأنزيم على تعطيل أنزيمات الحلمهة التي ينتجها الفطر الممرض

(Howell, 2003) .

3- المنافسة Competition: تعتبر أنواع فطريات تريكوديرما بشكل عام منافسات قوية (Samuels, 1996)

فنمو مشائجها بشكل سريع جداً تحجم نمو الممرضات الفطرية النباتية وبالتالي فهي تنافس الفطر الممرض

على المكان قبل أن تنافسه على الغذاء، ولذلك فإن معاملة البذار بهذا الفطر قبل الزرعة تعتبر من

الاستراتيجيات الهامة للوقاية من الممرضات (Papavizas, 1985; Howell, 2003).

4-المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR) : تحفز أنواع فطر التريكوديرما

آليات الدفاع عند النبات على الجذور حيث تقوم عند اضافتها إلى منطقة الريزوسفير بحماية النباتات من

عدد كبير من الممرضات بما في ذلك الفيروسية والجراثومية والفطرية، مما يشير إلى تنشيط أو تحفيز آليات مقاومة مشابهة لاستجابة فرط الحساسية من قبل النبات للدفاع عن نفسه (Harman *et al.*, 2004). تقوم سلالات فطرية متخصصة من جنس التريكوديرما بالنمو وتشكيل مزارع فطرية على جذور النبات ثم تخترق خلايا الجذر وتحدث سلسلة من التغيرات المورفولوجية والبيوكيميائية في النبات والتي تعتبر جزءاً من الاستجابة الدفاعية للنبات التي تؤدي إلى تشكيل المقاومة المستحثة (Bailey and Lumsden, 1998).

5- تعطيل أنزيمات الممرض Inhibition of Pathogen Enzymes : وهي آلية أخرى تستخدمها أنواع التريكوديرما في مكافحة الحيوية، فعلى سبيل المثال قامت السلالة *T. harzianum* (T39) بإفراز أنزيم البروتيناز على أسطح النباتات والذي عطل بدوره أنزيمات البكتيناز والكوتيناز والغلوكاناز والكتينيناز التي يفرزها فطر *B.cinerea* (Eiad *et al.*, 1999).

2-3-2- فطريات الجذور (الميكوريزا Mycorrhiza):

تعد التربة نظام بيئي لمعقد ديناميكي من الكائنات الحية الدقيقة حيث أن متراً مكعباً واحداً منها يحتوي على أعداد كبيرة من أنواع الأحياء الدقيقة والمختلفة في تصنيفها وكميتها وفعاليتها، ممرضة وغير ممرضة للنبات مترافقة مع بعضها وتحصل بينها جملة من التفاعلات تظهر نتائجها في شكل النبات وتتغير هذه النتيجة عندما يتغير أحد عناصر التفاعل أو أحد عوامل البيئة المحيطة، وتعتبر فطريات الميكوريزا أحد هذه العناصر، حيث أن كتلة هذه الفطريات تشكل (5-50)% من الكتلة الحيوية في التربة ويتراوح وزن مشائجها الفطرية بين (54-900) كغ/هكتار وإذا استخدمت بعض المنتجات الصناعية منها فقد يصل هذا الوزن إلى 3000 كغ/هكتار (Cardoso and Kuyper, 2006) ، وتشير دراسة المستحاثات النباتية أن عمر هذه الفطريات يصل إلى 460 مليون سنة (Remy *et al.*, 1994)، حيث أن 90% من الأنواع النباتية تتعايش مع هذه الفطريات وبالتالي فهي حالة سائدة في الطبيعة وليست استثنائية (Masadeh, 2005).

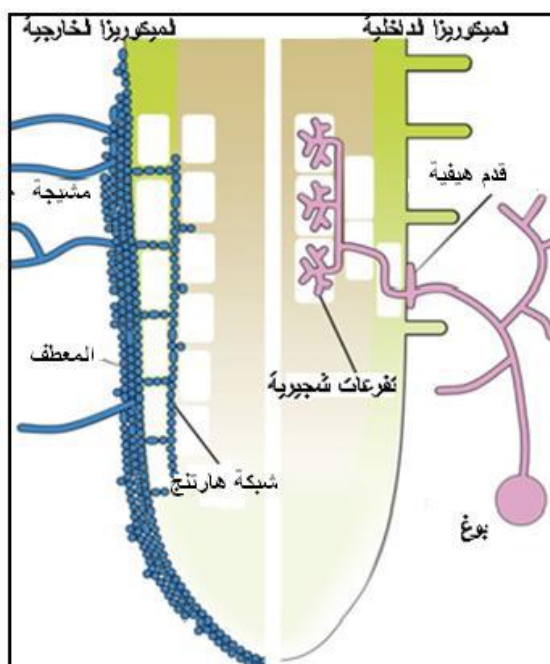
اشتقت كلمة Mycorrhiza من اللغة الاغريقية Mykorrhizen وهي جمع لكلمتين، Mykor وتعني فطر، Rhizen وتعني جذر (Sjoberg, 2005). يتألف الفطر المتعايش مع الجذور من مشيخة الفطر المتصلة بشكل وثيق مع جذور النبات مما يؤدي إلى تغيرات في الجذور النباتية من الناحية المظهرية والتشريحية . يميز في هذه الأشكال ثلاثة أنماط للميكوريزا : ميكوريزا داخلية Endomycorrhizae ، وميكوريزا خارجية Ectomycorrhizae، وميكوريزا داخلية-خارجية Endo-Ecto mycorrhizae (Smith and Read, 1997).

- **الميكوريزا الخارجية Ectomycorrhizae** : تنتشر الميكوريزا الخارجية في غابات المناطق المعتدلة (Thangadurai *et al.*, 2010) وتتعايش بكثرة مع الأشجار الحراجية ومنها الصنوبر والبلوط والأوكالبتوس، حيث تحيط الهيفات الفطرية بالجذر وتكون غلافاً يسمى المعطف Mantle وتستمر في التغلغل داخل الجذر النباتي بين خلايا القشرة لتكون شبكة من الهيفات بين الخلايا الجذرية يطلق عليها اسم شبكة هارتيج Hartig net. تنتشر الهيفات الفطرية في هذا النوع من التعايش بين خلايا قشرة الجذور دون دخولها، وتكون هذه الشبكة مع خلايا الجذر نظاماً ثنائياً للاتجاه لتبادل العناصر الغذائية حيث يتم نقل السكريات من النبات إلى الفطر المتعايش الذي يعزز بدوره امتصاص النبات للعناصر المعدنية. من ناحية ثانية فإن الهيفات الفطرية التي كونت هذه العلاقة تكون مجتمعة في التربة المحيطة بالنبات مكونة بذلك ما يسمى بالشبكة الهيفية الخارجية External hyphal network (Cripps *et al.*, 2008).

- **الميكوريزا الداخلية Endomycorrhizae** : يوجد ضمن هذه المجموعة العديد من فطريات الميكوريزا إجبارية التعايش مع فصائل نباتية، تنتمي معظم أنواع الميكوريزا الداخلية لأحد نمطي الميكوريزا إما الشجيرية Arbuscular mycorrhiza (AM) أو الشجيرية الحويصلية Vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM)، وتشكل جميعها تفرعات شجيرية Arbuscular وتشكل بعضها حويصلات ادخارية Vesicles (Bonfante and Genre, 2010).

تتميز الميكوريزا الداخلية عن الخارجية تشريحياً بأن الهيفات الفطرية في الميكوريزا الداخلية لا تكون ما يسمى بالمعطف Mantle، ولا تشكل شبكة Hartig، وتخترق المشيخة خلايا قشرة الجذر، كما تتفرع بين خلايا النسيج البارانشيمي ومن ثم تدخل الخلايا وتستقر فيها مكونة تركيبات شجيرية Arbuscules وظيفتها تبادل العناصر الغذائية بين الفطر وخلايا النبات ، وهناك تركيبات أخرى تعرف بالحويصلات Vesicles وظيفتها تخزين بعض المواد التي يحتاجها الفطر وقد تتحول هذه الحويصلات إلى أبواغ في التربة بعد تحلل النبات

(Smith and Read, 2008). وهناك أنواع فطرية من أجناس مختلفة تشارك في بنية الميكوريزا ولعل أهمها وأكثرها انتشاراً تلك الأنواع التابعة للجنس *Glomus* الذي يضم حوالي 90 نوعاً (Aher et al., 2011)، ولذلك فقد نال اهتمام الباحثين في دراساتهم وتطبيقاتها العملية (Schwarzott et al., 2001). تم تسجيل وجود أنواع الجنس *Glomus* في ترب العديد من الأنواع النباتية ومن بينها نباتات الفصيلة الباذنجانية في سورية (الأشقر والقاضي، 2000) حيث تم عزل أبواغ الفطر *G.mosseae* من حقول الباذنجان في بعض مناطق ريف دمشق (حيدر وآخرون، 2011).



شكل 3: تشكيلات فطريات الميكوريزا الداخلية والخارجية (Bonfante and Genre, 2010)

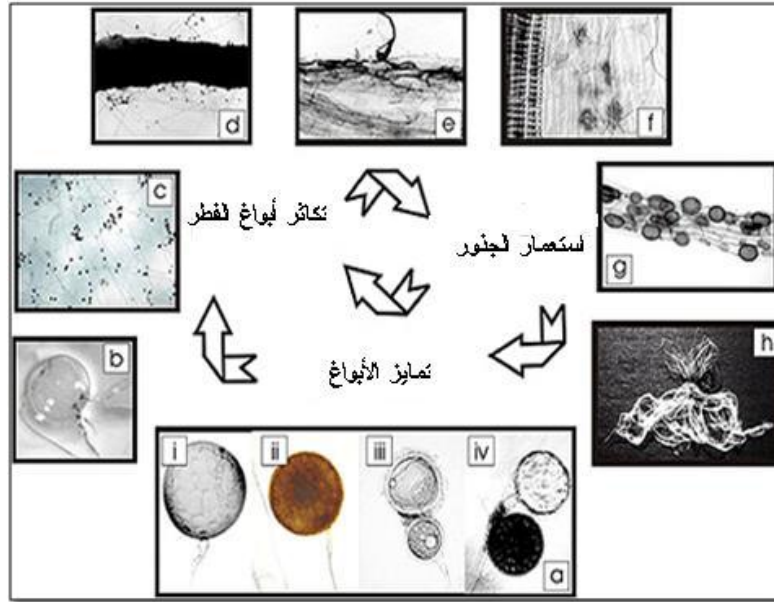
2-3-1- تصنيف فطريات الميكوريزا الداخلية:

أدت زيادة عدد الأجناس والأنواع المعروفة التابعة لهذه الفطريات إلى استخدام طرائق أكثر دقة في توصيفها كتلك التي تعتمد على المؤشرات الجزيئية، مما أدى إلى تعديل في تصنيف الفطريات المشاركة في الميكوريزا ووضعها في شعبة خاصة بها وهي *Glomeromycota* وصف *Glomeromycetes* ورتبة *Glomales* التي يتبع لها عدة فصائل هي: *Glomaceae*، *Acaulosporaceae*، *Gigasporaceae*، *Archaeosporaceae* و *Paraglomaceae*. من أهم أجناس رتبة *Glomales*: *Glomus*، *Acaulospora*، *Gigaspora*.

. (Redecker *et al.*, 2003 ; Schubler and Walker, 2010)

2-2-3-2- دورة حياة الفطريات المتعايشة (الميكوريزا)

تبدأ دورة الحياة من الأبواغ أو من أجزاء الجذور الممكزة الموجودة في التربة، حيث تخرج الهيفات من هذه الأبواغ أو من أجزاء الجذور وتنمو باتجاه جذور النباتات الأخرى وينتفخ طرف الهيفا ويشكل تركيباً يسمى عضو الالتصاق Appersorium، تخترق الهيفا جدر الخلايا الجذرية في البشرة وتسمى النقطة التي تدخلها الهيفا بنقطة الدخول الأولية. تنمو المشيجة داخل الجذور وتشكل تراكيباً مختلفة مثل التفرعات الشجرية لتبادل الغذاء مع خلايا النبات، والحوصلات التي تكون بمثابة أعضاء ادخارية مخزنة للكربوهيدرات، تعيش أبواغ الميكوريزا لفترة محددة في التربة تتراوح من عدة أشهر إلى سنة (Mandelbaum and Piche, 2000).



شكل 4: دورة حياة فطريات الميكوريزا الداخلية : a : تمايز الأبواغ، b: إنبات البوغ، c: تشكيل المشيجة المرتبطة مع الجذر، d: تكاثر الفطور، e : تشكل التفرعات الشجرية، f : تعايش الجذور (المكزة) وتشكيل الحوصلات الادخارية، g : تشكيل

الأبواغ، h : جذور مستعمرة بالميكوريزا (Dalpe and Monreal, 2004).

2-3-2-3- الظروف الملائمة لنمو الفطريات المتعايشة (الميكوريزا) :

تحتاج فطريات الميكوريزا إلى أوكسجين لتبقى حية وتتعدم الميكوريزا أعماق من 1.5 متر تحت سطح التربة (Ianson and Smeenk, 2010) ، كما تفضل درجات الحرارة المعتدلة من 18 إلى 22 س لأن درجات الحرارة المرتفعة يمكن أن تؤدي لقتل الأبواغ، وتفضل أيضاً الترب ذات الرطوبة المعتدلة وكذلك درجة الحموضة (PH=5-6)، كما يؤثر الضوء في درجة التعايش حيث يخفض الظلام نسبة تواجد الميكوريزا وإنتاج الأبواغ (Abbott and Robson, 1991)

تبشر الدراسات بإمكانية التوصل إلى مكافحة فعالة باستخدام الفطريات المتعايشة (الميكوريزا Mycorrhizae) التي تتعايش مع جذور النباتات المضيضة تحت تأثير الظروف الطبيعية، حيث أن لها دور في تثبيط العديد من الفطريات الممرضة للنبات (Larsen and Jakobsen, 1996; Harrier and Watson, 2004)، وتعد من أهم الفطريات التي استخدمت في مكافحة الحيوية فهي تلعب دوراً في تحفيز نمو النبات وتساهم جزئياً في حمايته من ممرضات التربة فهي تؤثر في درجة استيطان هذه الممرضات للجذور وتتنقص حساسية النبات للإصابة بها وتزيد من تحمله للإصابة بفطريات الذبول وأعفان الجذور مثل *F. oxysporum* و *R. solani* و *Macrophomina phaseolina* وفطريات أخرى مثل *Pythium spp.*، *Phytophthora spp.* وأجناس من الديدان الخيطية (النيماتودا Nematoda) الممرضة مثل *Pratylenchus spp.*، *Meloidogyne spp.* من خلال تفعيل الاستجابة الدفاعية للنبات والتي تتجلى بتنشيط إفراز بعض الهرمونات والأنزيمات الدفاعية (Abdel-Fattah, 2011; Muchovej, 2002; Schenck, 1982).

كما وجد Andera وآخرون (2008) أن إضافة الفطريات المتعايشة VAM (Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi) أدى إلى زيادة نمو النباتات، كما أمكن التخفيف والحد من الأثر الضار للفطر *R. solani* على نباتات البطاطا حيث أن أعراض المرض المتمثلة بتقرح الساق والقشرة السوداء على الدرنات قد انخفضت بشكل واضح. وفقاً لـ Artursson وآخرون (2006) وجد أن فطريات الميكوريزا VAM تزيد من النمو ومحتوى الفوسفور للعديد من المحاصيل حيث تزيد من امتصاص النبات للفوسفور والعناصر المعدنية الأخرى مثل الزنك والبوتاسيوم والنحاس والآزوت ويعود ذلك إلى زيادة سطح الجذور وهي بذلك تقوم مقام الشعيرات الجذرية في زيادة سطح الامتصاص وتخزين العناصر الغذائية والماء من التربة (Hodge and Campbell, 2001) ، أما العناصر الصغرى مثل الحديد والمنغنيز فتتركزها في جذور وأوراق النباتات الممكزة أقل منها في النباتات غير الممكزة وهذا يدل على دور فطريات الميكوريزا الداخلية في خفض تراكيز هذه العناصر في النبات وبالتالي حماية

النبات من سمية هذه العناصر (Cardoso and Kuyper, 2006). من ناحية أخرى أدت المعاملة بفطريات الميكوريزا الشجرية (AM) *Arbuscular mycorrhiza* إلى انخفاض في شدة الإصابة بالفطر *R. solani* (Steven *et al.*, 2005) حيث أنها تحسن القدرة الغذائية والفيزيولوجية للنبات، كما تحد من الإصابة بمرض سقوط البادرات المفاجئ (Damping-off) (Manila and Nelson, 2013)

توجد الفطريات المتعايشة في كل مكان تقريباً وحوالي 90% من الأنواع النباتية توجد متعايشة مع هذه الفطريات بحيث لا يمكن لبعض النباتات أن تنمو بشكل طبيعي من دونها (Kendrick, 1992; Marschner, 1995)، وتستثنى من ذلك نباتات الفصيلة السرمقية *Chenopodiaceae* والفصيلة الملفوفية *Brassicaceae* التي لا تستجيب للتعايش مع هذه الفطريات إلا في ظروف بيئية خاصة جداً، حيث تفرز جذورها مواداً سامة لهذه الفطريات وتمنع إنتاش أبواغها (Joseph, 1997). ولكن مع ذلك فقد بيّن الأشقر وعلي (2007) أنه حتى نباتات هاتين الفصيلتين يمكن أن تشكل ميكوريزا في بعض الأحيان.

كما ثبت أن الفطريات المشاركة في الميكوريزا الداخلية تمتلك مقدرة كبيرة كعامل مكافحة حيوية ضد مسببات الأمراض التي تنتقل بالتربة مثل الأنواع التابعة للأجناس التالية: *Rhizoctonia*، *Pythium*، *Phytophthora*، التي تعد من الأمراض المسببة لخسائر اقتصادية كبيرة وتظهر هذه المقدرة بشكل خاص في الميكوريزا الشجرية الحويصلية (VAM) (Whipps, 2004; Kawaguchi and Minamisawa, 2010)، وكذلك لأنواع مختلفة من النيماتودا (Harrier and Watson, 2004)، وقد وجد أن عزلات من الجنس *Glomus* أدت إلى انخفاض كبير في مادة العدوى المتسببة عن الفطر *R. Solani* في البطاطا (Yao *et al.*, 2002)، كما أشار Rahman و Bhattipolu (2005) إلى الدور الفعال للميكوريزا في مكافحة مرض سقوط البادرات، كما أجريت دراسة في جنوب افريقيا استخدمت فيها فطريات الميكوريزا الداخلية الشجرية AM (النوع *Glomus intraradices*) وفطر *Trichoderma harzianum* حيث تم معاملة التربة بكلا الفطرين بشكل مستقل ثم بشكل مشترك بهدف دراسة التأثير المتبادل بينهما فأظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في نسبة سقوط البادرات الذي يسببه الفطر *R. solani* خاصة عند معاملة التربة بالفطرين معاً (Nzanza *et al.*, 2011)، كما أدى تلقیح نباتات البطاطا بفطريات الميكوريزا النوع *G. etunicatum* إلى التقليل من الإصابة بالفطر *R. solani* فضلاً عن تحسين النمو وزيادة انتاجية البطاطا (Pirazzi *et al.*, 1999)، وقد بيّن Larsen وزملاؤه (2011) إلى أن تلقیح شتول نبات البندورة بفطريات الميكوريزا قبل زراعتها بالتربة قد قلل من الإصابة بالفطر *Pythium aphanidermatum*، كما

استخدمت في مكافحة الذبول الوعائي على البندورة المتسبب عن الفطر *fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* حيث أعطت نتائج مشجعة في السيطرة على هذه الأمراض (Reddy *et al.*, 2006).

أثبتت دراسة في العراق إلى أن اضافة فطريات الميكوريزا عند زراعة بذور الفاصولياء لمكافحة مرض تعفن الجذور الذي يسببه الفطر *R. solani* قد قامت بتنشيط الفطر الممرض وزيادة في نمو النبات وانتاجيته ولوحظ وجود علاقة طردية بين معدل تعايش الجذور بالميكوريزا ووزن الجذر والمجموع الخضري و طول النبات مقارنة مع الشاهد (Matloob and Juber, 2013)، كما قلل استخدام الميكوريزا VAM من اصابة فول الصويا بمرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii* (Sastrahidayat *et al.*, 2011).

ويمكن شرح دور فطريات الميكوريزا في مكافحة ممرضات التربة بوحدة أو أكثر من الآليات التالية: (Harrier and Watson, 2004)

- تحسين امتصاص العناصر الغذائية.
- تعويض الضرر الناتج عن المرض.
- تغيرات تشريحية في المجموع الجذري.
- تغيرات في بناء الجذر.
- المنافسة على مواقع الاختراق والتغذية.
- المنافسة على منتجات عملية التركيب الضوئي.
- تغيير في محتوى التربة من الأحياء الدقيقة.
- تنشيط آليات المقاومة في النبات.

ثالثاً: مبررات البحث

- 1- الإصابة الشديدة لنبات البطاطا بمرض القشرة السوداء وانتشاره في أغلب مناطق زراعة البطاطا في القطر.
- 2- الرغبة في ايجاد مواد مضادة للفطر الممرض من مصادر طبيعية.
- 3- ندرة المعلومات التي تحدد وتبين أثر استخدام فطريات الميكوريزا في مكافحة الحيوية.
- 4- التقليل ما أمكن من استخدام المواد الكيميائية في مكافحة.

رابعاً: أهداف البحث

- 1- دراسة القدرة التضادية للفطرين *Trichoderma harzianum* و *T.viride* ضد الفطر الممرض *R. solani* على وسط زرع PDA مخبرياً.
- 2- دراسة تأثير الفطريات المتعايشة (*Mycorrhizae*) على الفطر الممرض *R.solani* ومقارنتها مع تأثير فطريات الجنس *Trichoderma* ضمن الأصص.
- 3- مقارنة تأثير فطريات الجنس *Trichoderma* والفطريات المتعايشة (*Mycorrhizae*) بالمبيد الكيميائي Flutolanil على الفطر الممرض المدروس ضمن الأصص.
- 4- دراسة تأثير المبيد الكيميائي Flutolanil على عوامل مكافحة الحيوية المختبرة.

خامساً: المواد وطرائق العمل

تمت هذه الدراسة في مخبر قسم الأمراض – إدارة بحوث وقاية النبات – الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية وذلك خلال عامي 2018 و 2019.

تم تنفيذ تجربتين مخبريتين لاختبار فعالية وتأثير نوعين من الجنس *Trichoderma* على الفطر *R. solani* وهما: *T. harzianum* و *T. viride* وذلك عن طريق التطفل المباشر و افراز مواد سامة.

كما تم تنفيذ تجربة أصص لاختبار فعالية الفطر *Trichoderma spp* والفطريات المتعايشة (*Mycorrhizae*) في الحد من ضرر الفطر *R. solani* والمقارنة بين تأثير عوامل مكافحة الحيوية مع بعضها و مع تأثير المبيد الكيميائي مونكت (Moncut)، مادته الفعالة 25% Flutolanil والذي يتبع للمجموعة الكيميائية Carboxamide وهو مبيد جهازى يعمل على تثبيط عمل الأنزيمات الخاصة بالتنفس له فعل وقائي وعلاجي، فعال على عدد من الفطريات (فطريات الرايزوكتونيا- الصدأ والفطريات البازيدية)، كما تمت دراسة تأثير هذا المبيد على عوامل مكافحة الحيوية.

1-5- عزل الفطري:

1- عزل الفطر الممرض *R. solani* :

تم جمع عينات من حقول زراعة البطاطا في منطقة محردة بحماه، وتم عزل الفطر الممرض من درنات البطاطا التي تظهر عليها أعراض الإصابة، حيث تم اجراء مقاطع عرضية في أماكن الإصابة ثم عقت هذه المقاطع بمادة هيبوكلوريت الصوديوم 1% لمدة خمس دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم لمدة 5 دقائق ثم تم تجفيفها على ورق نشاف معقم وبعد ذلك زرعت على وسط زرع بطاطا دكستروز آجار (PDA) وحضنت على حرارة 28°س لمدة خمسة أيام، بعد ذلك تم الفحص المجهرى لهذه الأطباق ومن ثم تنقية هذه الفطريات عن طريق زراعة طرف النمو الفطري مرة أخرى في أطباق بتري جديدة وبالتالي حصلنا على عزلات نقية من الفطر الممرض *R. solani* تم حفظها لاستخدامها حسب المعاملات.

تم تعريف الفطر من خلال شكل المشيعة على وسط الزرع PDA ولونها، ومن الصفات المجهرية للمشيعة ونمط تفرعها علماً أنه لا يشكل أبواغاً كونيدية.

2- عزل فطريات *Trichoderma* spp.

جمعت عينات تربة من حقول مزروعة بالبطاطا من أجل عزل فطريات *Trichoderma* منها باستخدام طريقة Johnson وزملاؤه (1959) حيث تم وزن 1 غ من عينة التربة بعد خلطها بشكل جيد وإضافتها إلى أول أنبوب من ستة أنابيب يحوي كل منها 9 مل ماء مقطر معقم وتم تخفيفها لستة أنابيب حتى يصل التمديد إلى 10⁶ في الأنبوب السادس ، ثم أخذ 1 مل من الأنبوب الأول والثالث و السادس كل على حده وتم تخطيطها في ثلاثة أطباق بتري تحتوي على وسط زرع بطاطا دكستروز آغار (PDA) حضنت هذه الأطباق على حرارة 28°س لمدة خمسة أيام، بعد انقضاء مدة التحضين لوحظ نمو العديد من المزارع الفطرية تم إعادة تنقيتها وتصنيفها للحصول على الفطريات المطلوبة للدراسة ثم اكثارها وحفظها إلى حين استخدامها حسب المعاملات.

تم تعريف الفطر ودراسة تعضياته على وسط الزرع PDA اعتماداً على الصفات الشكلية للمزرعة، ولونها، والأبواغ الكونيدية وحوامل الأبواغ الكونيدية والفياليدات.

3- عزل الفطريات المتعايشة *Mycorrhizae*

تم استخلاص أبواغ الفطريات المتعايشة الداخلية من العينات الترابية بطريقة المناخل (Gerdeman and Nicolson, 1963; Daniel and Skipper, 1982) حيث تتصف هذه الأبواغ بأبعاد كبيرة (50-500) ميكرون، كما يلي: أخذ وزن 200 غ تربة (حجم 200سم³) ووضعت في وعاء مع حجم 2 لتر ماء وتركت العينة لمدة خمس دقائق لتفتت حبيبات التربة وتحرير الأبواغ، حرك المعلق ثم مررناه عبر مجموعة من المناخل ذات قياسات 250، 180، 106، 36 ميكروناً بحيث يكون المنخل ذو الثقوب الكبيرة في الأعلى والأصغر في الأسفل، جمعت محتويات كل منخل بواسطة تيار مائي خفيف ثم فحصت تحت المكبرة لمعرفة محتواها من الأبواغ وتحديد أعدادها في 1 مل من المعلق وذلك باستخدام شريحة عد ثم جمعت وحفظت في محلول رنجر Ringer,s solution (البهادلي, 1994)، وذلك للحفاظ على حيويتها حتى موعد استخدامها في تلقيح نباتات التجربة المخبرية، ويتكون هذا المحلول من مزيج من المواد التالية: 6.5 غ كلور الصوديوم NaCl + 0.4 غ كلور البوتاسيوم KCl + 0.25 غ كلور الكالسيوم CaCl₂ + 1000 مل ماء مقطر.

تمت تنمية خليط من أبواغ الفطريات المتعايشة الشجرية الداخلية (VAM) على نباتات الذرة الصفراء (صنف غوطة 82) وهو نبات عرف بتعايشه الجيد مع هذه الفطريات، حيث زرعت بذورها في خلطة ترابية (2/1 تربة، 2/1 تورب) معقمة تعقيماً رطباً على درجة حرارة 120°س لمدة 20/دقيقة، وزعت البذور في ثلاثة أصص قطر كل منها 30 سم بمعدل ثلاث بذور في كل أصيص و تم إضافة معلق الأبواغ المحفوظة في محلول رنجر على دفعات (بعد 3 أيام من الزراعة، بعد 6 أيام، بعد 10 أيام) وذلك مع ماء السقاية وبمعدل 20±200 بوغاً

للأصيص، وبعد حوالي شهرين تم قلع نباتات الذرة الصفراء و أخذت الجذور وغسلت وقطعت إلى قطع بطول 1 سم تقريباً لاستخدامها كلقاح ميكوريزي.

2-5- اختبار فعالية نوعين من الجنس *Trichoderma* في التأثير على الفطر *R. solani* مخبرياً

1- عن طريق التطفل المباشر

تمت في هذه التجربة دراسة تأثير نوعين من فطر التريكوثيرما على الفطر الممرض *R. solani* وهما: *T. harzianum* ، *T. viride* حيث جرت تنمية الفطريات على وسط زرع PDA لمدة خمسة أيام (حتى تكون بنفس العمر)، ثم تم تحضير أقراص متساوية الأحجام (5مم) من المشيجة لكلا فطري المكافحة الحيوية وللفطر الممرض. تم هذا الاختبار بطريقة الزرع المزدوج حيث قُسم طبق بتري (قطر 9سم) الحاوي على وسط الزرع PDA إلى قسمين متساويين، لُقح مركز القسم الأول بقرص يحتوي على العامل الممرض *R. solani* أما المركز الثاني فُلّقح بقرص مماثل يحتوي على الفطر المضاد، أما في معاملة الشاهد تم فقط تلقيح مركز القسم الأول بالقرص الحاوي على الفطر الممرض (Aghighi et al., 2004). استخدمت ثلاث مكررات لكل معاملة ، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 28°س، أُخذت القراءات بعد 3 - 6 - 9 أيام وذلك بقياس متوسط قطر مزرعة الفطر الممرض والفطر الحيوي على امتداد الخط المنصف في طبق بتري، ثم حسبت النسبة المئوية لتنشيط نمو الفطر الممرض تحت تأثير فطر التريكوثيرما حسب معادلة (Fokkemama, 1976) كما يلي:

$$Y = 100((A-B)/A)$$

Y : النسبة المئوية لتنشيط نمو المسبب المرضي

A : متوسط قطر مشيجة المسبب المرضي في معاملة الشاهد

B : متوسط قطر مشيجة المسبب المرضي في معاملة التضاد

2- التضاد الحيوي باستخدام رشاحة نوعين من الجنس *Trichoderma* :

تمت تنمية الفطريات *T. harzianum* و *T. viride* في دوارق مخروطية سعة 150 مل تحتوي على وسط مستخلص البطاطا السائل بعد تعقيمها بالأوتوغلاف وتبريدها، وذلك بأخذ ثلاث أقراص بقطر 5مم من المستعمرة الفطرية لكل نوع بعمر 5 أيام و وضعها في الدوارق، ثم وضعت على جهاز الرجّاج لمدة 14 يوم على درجة حرارة 25°س لتوزيع الكتلة الفطرية بشكل متجانس، وبعد انقضاء مدة التحضين والحصول على نمو فطري كبير تم طرح المشيجة عبر عملية ترشيح باستخدام ورق ترشيح معقم، ثم تم فصل الأبواغ بإخضاع

السائل لقوة نابذة بسرعة دوران 4000 دورة/دقيقة والمستخلص الناتج تم خلطه مع وسط الزرع (PDA) قبل تجمده عند درجة حرارة 45°م بنسبة 1:1 و 1:2 على التوالي ثم صب المزيج داخل أطباق بتري بقطر 9 سم، وبعد تصلب الوسط تم أخذ قرص بقطر 5مم من مستعمرة الفطر الممرض (*Rhizoctonia solani*) المنمأة مسبقاً في وسط الزرع (PDA) وبمر 4 أيام وزرعت في وسط الأطباق المحتوية على المستخلصات أعلاه ، وزرع قرص آخر في وسط زرع (PDA) غير معاملة بالمستخلصات كشاهد، تم استخدام 3 مكررات لكل معاملة، ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 28°س لمدة سبعة أيام. أخذت القراءات بعد 24 ساعة من وضع الأقراص الحاوية على الفطر الممرض ولمدة ستة أيام، وذلك بقياس نصف قطر النمو الشعاعي للفطر الممرض *Rhizoctonia solani* (Agrawal et al.,1977).

3-5- اختبار فعالية عوامل مكافحة الحيوية في التأثير على الفطر *R.solani* المسبب لمرض القشرة السوداء على البطاطا ضمن الأصص

يقوم هذا الاختبار بتقدير تأثير نوعين من الجنس *Trichoderma* وفطريات الميكوريزا كل على حدة وبشكل مجتمع على *R. solani* ومقارنة هذا التأثير مع تأثير المبيد الكيميائي مونكت (Moncut) المصنع من قبل شركة التنمية الزراعية حيث أن المادة الفعالة في هذا المبيد هي الفلوتولانيل (25% flutolanil) على الفطر الممرض *R. solani*، ودراسة تأثير المبيد على فطريات مكافحة الحيوية. أستخدم في هذا الاختبار أصص بلاستيكية بقطر 30 سم للزراعة، يملأ كل أصيص بـ 7 كغ من خليط التربة والتورب المعقم (2/1 تربة + 2/1 تورب)، وتتم زراعة درنة واحدة من صنف سبونت في كل أصيص.

3-5-1- تحضير اللقاح الفطري:

1- تحضير اللقاح المعدي للفطر الممرض *R. solani*:

تم نقع 200 غ من الشعير في 250 مل من وسط البطاطا والدكستروز ضمن دوارق سعة 1 لتر لمدة 24 ساعة، ثم تم تعقيم الخليط بالأوتوكلاف مرتين بفاصل يوم واحد ، بعد ذلك تم اجراء عدوى للدوارق المعقمة بـ 1/4 مزرعة فنية لفطر الريزوكتونيا (بمر 5 أيام) وحضنت الدوارق على درجة حرارة 25±2°س لمدة أسبوعين مع تحريك دوري للدوارق من أجل تجانس نمو الفطر، تم خلط اللقاح جيداً و اضافته إلى الأصص حسب المعاملات بمعدل 4 غ لكل أصيص ثم تم تغطية اللقاح بطبقة من الرمل المعقم (Ko and Hora, 1971).

2- تحضير لقاح أنواع الجنس *Trichoderma spp*:

تم نقع 80 غ من حبوب القمح في 80 مل ماء مقطر ضمن دوارق سعة 500 مل لمدة 24 ساعة ومن ثم وضعت الدوارق في الأوتوكلاف مرتين على درجة حرارة 121 °م لمدة 20 دقيقة بفاصل يوم واحد، بعد ذلك تم وضع ثلاث أقراص (بقطر 8 مم) من مزارع فتية من كل فطر (بعمر 5 أيام) في الدوارق وكل على حدى، وحضنت الدوارق على درجة حرارة 25 °س ± 2 °م لمدة أسبوعين مع تحريك دوري للدوارق من أجل تجانس النمو، وتم اضافتها إلى الأصص حسب المعاملات. (Abo-Elnaga and Heidi, 2012).

3- تحضير اللقاح بفطريات الميكوريزا:

تم استخدام جذور نباتات الذرة الصفراء الممكرزة كلقاح ميكوريزي والتي تم الحصول عليها كما ذكر في الفقرة 1-5، حيث أضيفت إلى الأصص حسب المعاملات وبمعدل 30 غ لكل أصيص ثم تغطيتها بطبقة رقيقة من رمل المزار المعقم.

تضمن هذا الاختبار المعاملات التالية:

1- شاهد سليم

2- شاهد معدي بالفطر الممرض

3- الفطر الممرض مع الفطريات المتعايشة Mycorrhizae

4- الفطر الممرض مع المبيد الكيميائي + الفطريات المتعايشة Mycorrhizae

5- الفطر الممرض مع المبيد الكيميائي + *T. harzianum*

6- الفطر الممرض مع المبيد الكيميائي + *T. viride*

7- الفطر الممرض مع المبيد الكيميائي مونكت وذلك بتغطيس الدرنات لمدة 10 دقائق بمعدل 400 غ/طن

8- الفطر الممرض مع الفطريات المتعايشة + *T. harzianum*

9- الفطر الممرض مع الفطريات المتعايشة + *T. viride*

10- الفطر الممرض مع الفطريات المتعايشة + *T. harzianum* + *T. viride*

11- الفطر الممرض *R. solani* مع فطر *T. harzianum*

12- الفطر الممرض *R. solani* مع فطر *T. viride*

13- الفطر الممرض مع *T. harzianum* + *T. viride*

تم دراسة المؤشرات التالية: ارتفاع النبات، الوزن الرطب للمجموع الخضري، الوزن الرطب للمجموع الجذري، وزن الدرنات

وتم تقدير شدة الإصابة المتطورة على السوق الموبوءة بعد 10 أسابيع من الزراعة بالاعتماد على المقياس الذي وضعه Hall وزملاؤه (2001) كما يلي:

0 = لا توجد بقع

1 = بقعة واحدة قطرها ≥ 25 مم

2 = بقعة واحدة يتراوح قطرها بين 26 – 50 مم

3 = بقعة واحدة قطرها < 50 مم أو مجموعة بقع قطرها < 50 مم لكن لا تحيط بالساق

4 = وجود بقع قطرها ≥ 25 مم لكن تحيط بالساق بشكل كامل

5 = وجود بقع قطرها < 25 مم وتحيط بالساق بشكل كامل

وتم حساب النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة Mchinney (1923) :

عدد النباتات في الدرجة 0×0 + عدد النباتات في الدرجة 1×1 + ... + عدد النباتات في الدرجة 5×5

% لشدة الإصابة = $\frac{\text{مجموع النباتات المفحوصة} \times 5}{100 \times \dots}$

مجموع النباتات المفحوصة × 5

أما شدة إصابة الدرنات بالقشرة السوداء فتم حسابها اعتماداً على المقياس الذي وضعه Hall وزملاؤه (2001) والمذكور في حسون (2005) كما يلي:

0 = الدرنات سليمة

1 = 20% من مساحة سطح الدرنات مغطى بالأجسام الحجرية

2 = 20-40% من مساحة سطح الدرنات مغطى بالأجسام الحجرية

3 = 40-60% من مساحة سطح الدرنات مغطى بالأجسام الحجرية

4 = 60-80% من مساحة سطح الدرنات مغطى بالأجسام الحجرية

5 = 80-100% من مساحة سطح الدرنات مغطى بالأجسام الحجرية

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة وفق معادلة Mchinney (1923):

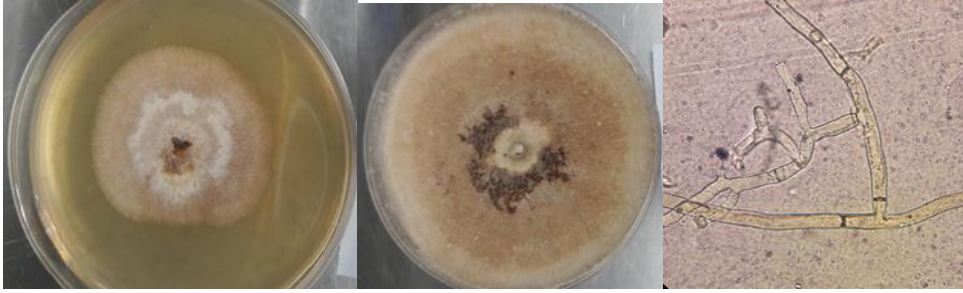
$$\% \text{ لشدة الإصابة} = \frac{\text{عدد الدرنات في الدرجة } 0 \times 0 + \text{عدد الدرنات في الدرجة } 1 \times 1 + \dots + \text{عدد الدرنات في الدرجة } 5 \times 5}{\text{مجموع النباتات المفحوصة} \times 5} \times 100$$

5-4- التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الاحصائي Genstat وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وتمت مقارنة المتوسطات وحساب أقل فرق معنوي LSD على مستوى 1% للتجارب المخبرية و 5% لتجارب الأصص.

1-6- الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

أبدت المشائج الناتجة من انبات الأجسام الحجرية المعزولة من درنات البطاطا المصابة بالمرض مظهراً شعاعياً على الوسط المغذي PDA، ذات لون أبيض يتحول إلى البني أو القشدي (الكريمي) كلما تقدمت المشائج بالعمر. كما أوضح الفحص المجهرى أن هيفات المشيجة تتكون من خلايا طويلة، وتكوّن فروعاً تنمو بشكل زوايا قائمة تقريباً ولها جدار عرضي بالقرب من منطقة التفريع ويكون الفرع ضيقاً (مختنقاً) في هذا المستوى وكان هذا مطابقاً لما جاء به Agrios (2005). (شكل 5)



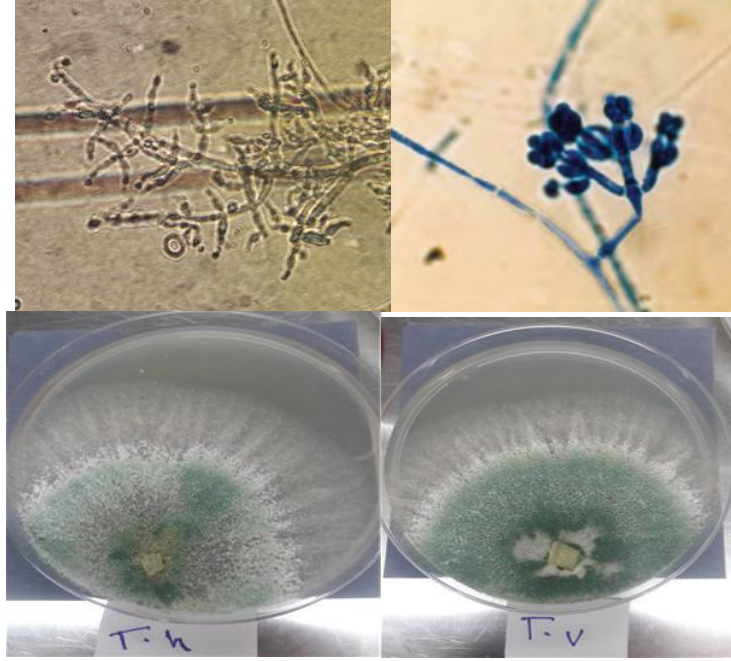
شكل 5: الصفات المزرعية والمجهرية للفطر *R. solani*

2-6- فطريات الجنس *Trichoderma*

تم التعرف على أنواع الجنس *Trichoderma* النامية على وسط PDA بواسطة المجهر الضوئي بالاعتماد على صفاتها الشكلية وألوانها وتم توصيفها وفق الآتي:

- أعطى الفطر *T. harzianum* نموات سريعة كانت في البداية رقيقة ونصف شفافة ثم أصبحت خليطاً من خصل مخضرة تميل إلى أن تكون مرتبة في حلقات، الحوامل البوغية طويلة ورفيعة متفرعة بشكل ثنائي أو ثلاثي والفروع الجانبية منتهية بفياليدات ويتطابق ذلك مع الباحثين Rifai (1969) و Komatsu (1976).

- كانت نموات النوع *T. viride* شفافة تقريباً ثم أصبحت بلون أبيض مائل للأخضر مع تقدم المزرعة بالعمر مع وجود كتل من الأبواغ بلون أخضر، الحوامل البوغية متفرعة بشكل هرمي تتميز بقصر طولها، خضراء اللون في النهايات الطرفية على خلاف القاعدة، أما الفياليدات فتبدو متجمعة في هيئة باقة (Samuels et al., 2002). (شكل 6)



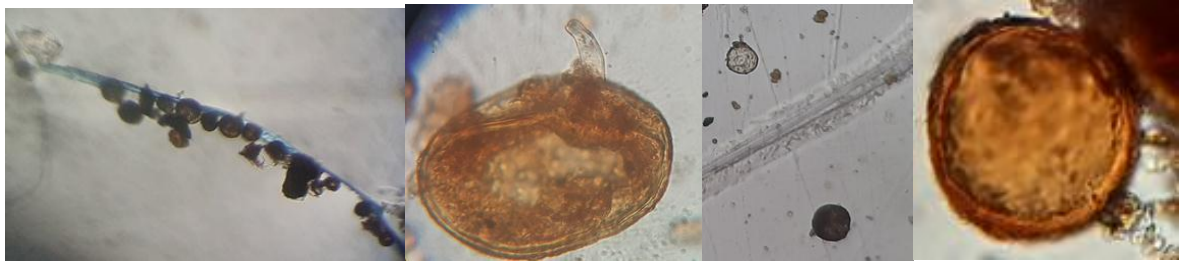
الفطر *T. harzianum*

الفطر *T. viride*

شكل 6: الصفات المزرعية والمجهريّة لنوعي الجنس *Trichoderma*

3-6- فطريات الميكوريزا:

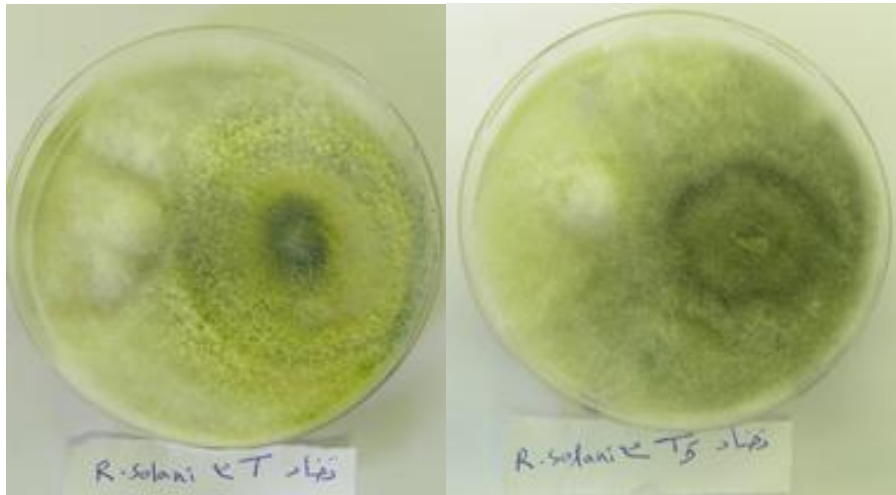
أظهر الفحص المجهرى باستخدام المجهر الضوئى شكل أبواغ أنواع الفطريات المتعايشة (الميكوريزا) حيث تتميز هذه الأبواغ بكبر حجمها الذي يزيد عن 50 ميكرون وسماكة جدرها التي تتكوّن من أكثر من طبقة واحدة إضافة لوجود الحامل البوغى الملتصق بالبوغ. (شكل 7)



شكل 7: أبواغ فطريات التعايش الجذري (الميكوريزا) تحت المجهر الضوئى

4-6- اختبار فعالية نوعين من الجنس *Trichoderma* على الفطر *R. solani* مخبرياً:

أظهرت النتائج أن عزلات كلا النوعين لها قدرة عالية على تثبيط نمو الفطر *R. solani* حيث تمكنت من استيطان مزرعة الفطر الممرض والتبوغ فوق المشيجة اعتباراً من اليوم الرابع من الزرع (شكل 3)، كما أوضحت النتائج تفوق النوع *T. viride* على النوع *T. harzianum* معنوياً في التوقيتين (بعد 6 أيام، بعد 9 أيام) فقد بلغت نسبة التثبيط بعد 6 أيام 84.72%، و73.33%، وبعد 9 أيام 87.78%، و81.11% على التوالي، أما بالتوقيت الأول (بعد 3 أيام) كانت الفروق ظاهرية في نسب التثبيط بين النوعين حيث بلغت 62.89%، و62.82% على التوالي، كما لوحظت زيادة نسبة التثبيط مع مرور الأيام فعند مقارنة نسبة التثبيط بالأوقات الثلاثة لكل نوع تبين عدم وجود فروق معنوية بين التوقيتين (بعد 6 أيام وبعد 9 أيام) في حين كانت الفروق معنوية بينهما وبين التوقيت الأول (بعد 3 أيام) حيث كانت نسب التثبيط للفطر *T. viride* للأوقات الثلاثة 84.72%، و87.78% على التوالي، أما بالنسبة للنوع *T. harzianum* فكانت الفروق معنوية بين الأوقات الثلاثة حيث بلغت نسب التثبيط 62.82%، و73.33%، و81.11% على التوالي (جدول 1) و توافق ذلك مع ما ذكره Hawell (2003) من أن كلا النوعين *T. viride* و *T. harzianum* أعطيا تأثيراً مثبتاً للفطر *R. solani* من خلال افراز مركبات سامة مثبطة للعامل الممرض، ، وانسجمت النتائج مع ما ذكره El-Kafrawy (2002) إلى أن عزلات *Trichoderma* تثبّط نمو الفطر *R. solani* بنسبة 78.9%، وتوافقت أيضاً مع ما نوّه إليه العبيدي (2007) من أن النوع *T. viride* أعطى تأثيراً معنوياً تثبيطياً في نمو الفطريات الممرضة *Fusarium solani* و *R. solani*، وهذا أكدّه أيضاً Abdel-Kader وزملاؤه (2012) حول فاعلية النوعين *T. harzianum* و *T. viride* في مكافحة أمراض العفن المتسببة عن عدد من الفطريات الممرضة *R. solani* و *Fusarium solani* و *F. oxysporum*، كما أوضحه أبو السل (2013) في نتائجه عندما استخدم عزلات من النوعين *T. harzianum* و *T. viride* على مرض العفن الرمادي الذي يسببه الفطر *Botrytis cinerea* Pers حيث بلغت نسب التثبيط 93.4% و 92.5% على التوالي.



T. harzianum

T. viride

شكل 8: فعالية نوعي الجنس *Trichoderma* ضد الفطر *R. solani* عن طريق التطفل المباشر

جدول 1: نسبة تثبيط نمو فطر *R. solani* باستخدام نوعين من الجنس *Trichoderma* كل على حده على الوسط المغذي (PDA)

النسبة المئوية للتثبيط (%)	أيام بعد الزرع	
	<i>T. viride</i>	<i>T. harzianum</i>
3.31	a 62.89	a 62.82
	a 84.72	b 73.33
	a 87.78	b 81.11
	7.5	2.4
		(%1) LSD

تشير الأحرف المشتركة ضمن الصف الواحد إلى عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات

6-5- التضاد الحيوي باستخدام رشاحة نوعين من الجنس *Trichoderma* :

أوضحت النتائج أن كلا التركيزين المستخدمين في التجربة (1:1 و 1:2) لنوعي الجنس *Trichoderma* أحدث تثبيطاً لنمو الفطر الممرض *R. solani* كلاً على حدى. عند استخدام التركيز (1:1) أظهر النوع *T. viride* تفوقاً معنوياً في كفاءة التثبيط أعلى من النوع *T. harzianum* حيث بلغت نسب التثبيط 60.8% و 91.1% على التوالي، وعند استخدام التركيز الأعلى (1:2) زادت كفاءة النوع *T. harzianum* زيادة معنوية في تثبيط الفطر *R. solani* حيث ارتفعت نسبة التثبيط من 60.8% إلى 82.2% في حين لم يتأثر النوع *T. viride* بمضاعفة التركيز مع بقاء تفوق النوع *T. viride* معنوياً على النوع *T. harzianum* عند استخدام التركيز (1:2) (جدول 2)، وهذا يتوافق مع ما جاء به عابد وزملاؤه (2013) حيث تبين معه أن التركيز الأعلى للفطر *T. harzianum* أكثر كفاءة في التثبيط من التركيز الأدنى حيث ارتفعت نسبة التثبيط من 46.7% إلى 91.1%، وأظهر الفطر *T. koningii* كفاءة أكبر من *T. harzianum* في تثبيط العامل الممرض وتوافقت أيضاً مع ما ذكره Fadel (2005) حول قدرة أنواع الجنس *Trichoderma* على إنتاج مضادات حيوية تثبتت نمو الفطر *R. solani* بنسبة 70%، وهذا ما أشار إليه Vinale وزملاؤه (2008) أن أنواع الفطر *Trichoderma* تنتج العديد من المضادات الحيوية منها Gliotoxin و Trichoviridine و Viridol وبذلك تحدث تأثيراً مثبطاً للعديد من مسببات الممرضة، إضافة لامتلاكها القدرة على تحليل هيفات المسبب المرضي بإنتاج أنزيمات محللة مثل Chitinase و protease ولهذا تعد أداة مهمة وفعالة لمكافحة أمراض النبات (Viterbo et al., 2007).

جدول 2: نسبة تثبيط رشاحة نوعي الجنس *Trichoderma* لنمو الفطر *R. solani* على الوسط المغذي

PDA

LSD (بين المعاملات)	اليوم						المعاملة	التركيز
	6	5	4	3	2	1		
10.19	60.8	61.9	62.3	68.6	87.5	91.5	<i>T. harzianum</i>	1:1
	91.1	92.2	92.3	95.3	97.8	100	<i>T. viride</i>	
	82.2	82.6	83.8	87.5	92.9	95	<i>T. harzianum</i>	1:2
	93.3	94.5	94.9	99.2	100	100	<i>T. viride</i>	
	12.48						LSD (بين التراكيز ضمن المعاملة الواحدة)	

6-6- اختبار فعالية عوامل المكافحة الحيوية في التأثير على الفطر *R.solani* المسبب لمرض لقشرة السوداء على البطاطا ضمن الأصص

أدت المعاملات المختلفة إلى خفض شدة الإصابة حيث أظهرت النتائج تباينات واضحة في قيم مؤشرات نمو نباتات التجربة التي رصدت في المعاملات وذلك حسب اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% .

• ارتفاع النبات:

بيّنت النتائج تبايناً واضحاً في ارتفاع النبات في المعاملات المختلفة حيث وصل متوسط ارتفاعها إلى (81.93 سم) في المعاملة (10) التي تم فيها إضافة العوامل الحيوية بشكل مجتمع حيث كانت الفروق معنوية بينها وبين معاملة الشاهد السليم الذي وصل متوسط ارتفاع النبات إلى (63 سم)، كما تفوقت هذه المعاملة معنوياً على بقية المعاملات.

أشارت النتائج إلى أن اضافة عوامل المكافحة المستخدمة بالتجربة بشكل منفرد أو مجتمع أدت إلى زيادة ارتفاع النبات معنوياً مقارنة مع الشاهد السليم، أما فيما بينها لم تظهر فروق معنوية كما هو واضح في (الجدول 3)

- **وزن الدرنات:**

أظهرت النتائج فروقاً في قيم وزن درنات النبات بين المعاملات، حيث تفوقت المعاملة (10) معنوياً على بقية المعاملات الأخرى فقد بلغ وزن الدرنات (437.2 غ) مقارنة مع الشاهد (344.5 غ)، لم يلاحظ فروق معنوية بين المعاملات التي تم فيها اضافة عوامل المكافحة بشكل مزدوج (8،9،13)، كما تفوقت المعاملة بالميكوريزا معنوياً على المعاملتين *T. harzianum* و *T. viride* اللتين بقيت الفروق بينهما ظاهرية، أما المعاملات (4،5،6) التي استخدم فيها كل عامل من عوامل المكافحة الحيوية مع المبيد لم تظهر بينها فروق معنوية وهذا موضح في الجدول 3

- **الوزن الرطب للمجموع الجذري:**

أثر اضافة عوامل المكافحة الحيوية في الوزن الرطب للمجموع الجذري حيث أدى إلى زيادة هذا الوزن مقارنة مع معاملة الشاهد الذي بلغ (19.34 غ) وحصلنا على أعلى زيادة عند اضافة العوامل الثلاثة مجتمعة (المعاملة 10) حيث كانت الفروق معنوية بينها وبين بقية المعاملات حيث وصل الوزن إلى (49.5 غ)، كما بينت النتائج تفوق المعاملة بفطريات الميكوريزا معنوياً على المعاملتين *T. harzianum* و *T. viride* وكانت القيم على التوالي (35.14، 25.77، 25.93 غ)، لم يلاحظ فروق بين المعاملات التي أضيفت فيها عوامل المكافحة بشكل مزدوج أو مع المبيد، وكذلك لم يلاحظ فروق بين المعاملتين *T. harzianum* و *T. viride* بينما تفوقت المعاملة التي أضيف بها كلا النوعين معاً عليهما وكانت الفروق معنوية. (جدول 4)

- **الوزن الرطب للمجموع الخضري:**

بيّنت النتائج أن عوامل المكافحة قد زادت النمو الخضري للنباتات المعاملة حيث حصلنا على أعلى وزن للمجموع الخضري في المعاملة (10) والذي بلغ (312.7 غ) حيث تفوقت هذه المعاملة على معاملة الشاهد السليم (138 غ)، كما كانت الفروق معنوية بينها وبين بقية المعاملات. عند المقارنة بين نوعي الجنس *Trichoderma* (في المعاملتين 11 و 12) تبين عدم

وجود فروق معنوية بينهما، لكن عند مقارنتهما مع فطريات الميكوريزا (المعاملة 3) تبين تفوق فطريات الميكوريزا (221.4 غ) معنوياً على كلا النوعين (198 غ، 194.5 غ)، عند اضافة كل نوع من الجنس *Trichoderma* بشكل مشترك مع فطريات الميكوريزا أعطت زيادة في وزن المجموع الخضري، حيث بلغت في المعاملة (8) مع النوع *T.harzianum* (230 غ) وفي المعاملة (9) مع النوع *T. viride* (238.7 غ)، أعلى منه عند اضافة كل نوع بشكل مستقل مع وجود فروق معنوية بين الحالتين. (جدول 4)

عند التدقيق في النتائج تظهر بوضوح عملية تحفيز العامل الحيوي لنمو النبات حيث يؤدي إلى زيادة حجم كلاً من المجموع الخضري والمجموع الجذري وزيادة في انتاجية النبات، كما لوحظ أن اضافة أكثر من عامل حيوي في وقت واحد يحفز بشكل أكبر من النمو وهذا يدل على تظافر عمل هذه العوامل الحيوية مع بعضها وبالتالي الحصول على نباتات قوية مقاومة لأمراض التربة.

جاءت نتائجنا متوافقة مع عدد من الباحثين فقد وجد Vey وزملاؤه (2001) أن الأنواع التابعة للجنس *Trichoderma* تلعب دوراً في تحفيز نمو النبات ولاحظ حدوث تسريع في الانبات والازهار وزيادة طول النبات والوزن الرطب لنباتات المعاملة، وذكر العبيدي (2007) أن معاملة بذور البامياء بأبواغ النوع *T. viride* مع اضافة الصمغ العربي كمادة لاصقة أدى إلى زيادة ارتفاع البادرات وطول مجموعها الجذري والوزن الجاف، كما أشار Ha (2010) إلى أن مستحضر *Trichoderma* ذو تأثيرات قصيرة الأمد في تحفيز مقاومة العائل ضد المسببات المرضية بالاضافة إلى تحسين صفات ونمو المحاصيل النباتية فضلاً عن تأثيراتها طويلة الأمد المتمثلة بخفض لقاح الفطر المسبب للمرض في الحقل، وانسجمت النتائج أيضاً مع ما ذكره خريبة (2015) إلى أن اضافة الفطريات المتعايشة إلى جذور نبات البندورة أدت إلى زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري والوزن الرطب للمجموع الجذري حيث بلغت نسبة الزيادة 90.64%، 90.29% على التوالي، كما ساهمت في زيادة ارتفاع النباتات فقد وصل متوسط ارتفاعها إلى (24.58) سم مقارنة مع الشاهد (18.16) سم، وتتشابه مع نتائج دراسة أجريت على نبات الباذنجان حيث أظهرت أن تعايش جذور نبات الباذنجان مع الفطريات المتعايشة (الميكوريزا) يحسن من امتصاص عنصر الفوسفور من التربة بنسبة 30.5% مقارنة مع الشاهد وهذا ما يسهم في تحقيق زيادة

في الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري وبالتالي زيادة الانتاج، وهذا يعود إلى أن فطريات الميكوريزا تحسن من امتصاص الماء والعناصر الغذائية، كما أنها تحسن من عملية البناء الضوئي (حيدر وآخرون، 2011)، وهذا ما أشار إليه أيضاً Andera وزملاؤه (2008) إلى أن اضافة النوع *T. viride* مع فطريات الميكوريزا لنباتات البطاطا أعطى أعلى زيادة في ارتفاع النبات والوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري و المجموع الجذري مقارنة مع بقية المعاملات.

جدول 3: تأثير اضافة فطريات المكافحة الحيوية المدروسة في ارتفاع نباتات البطاطا ووزن الدرناات

المعاملة	ارتفاع النبات (سم)	وزن الدرناات (غ)
شاهد سليم	b 63	b 344.5
شاهد مصاب	a 49	a 258.7
ميكوريزا	def 71	d 462
مبيد + ميكوريزا	bcd 66	c 386.8
مبيد + <i>T. harzianum</i>	bc 65.33	c 387.5
مبيد + <i>T. viride</i>	b 64	c 384.9
مبيد	cde 69.67	b 346.8
ميكوريزا + <i>T. harzianum</i>	ef 73.33	d 406.2
ميكوريزا + <i>T. viride</i>	f 76	d 414.2
ميكوريزا + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	g 81.93	e 437.2
<i>T. harzianum</i>	ef 73	c 392.5
<i>T. viride</i>	ef 73.33	c 389
<i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	ef 74	d 406.2
LSD	5.562	12.24
% C.V	0.9	1.3

تشير الأحرف المشتركة في نفس العمود إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات

جدول 4: تأثير اضافة عوامل المكافحة الحيوية المدروسة على الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري لنباتات البطاطا

المعاملة	وزن المجموع الجذري (غ)	وزن المجموع الخضري (غ)
شاهد سليم	b 19.34	b 138
شاهد مصاب	a 11.48	a 76.5
ميكوريزا	def 35.14	def 221.4
مبيد + ميكوريزا	ef 37.14	ef 228.8
مبيد + <i>T. harzianum</i>	def 33.12	cd 195.8
مبيد + <i>T. viride</i>	de 32.77	cd 196.4
مبيد	bc 23.7	c 179.5
ميكوريزا + <i>T. harzianum</i>	f 37.49	ef 230
ميكوريزا + <i>T. viride</i>	def 33.95	f 238.7
ميكوريزا + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	g 49.05	g 312.7
<i>T. harzianum</i>	c 25.77	cd 198
<i>T. viride</i>	c 25.93	cd 194.5
<i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	d 32.21	de 207.8
LSD	4.391	27.67
% C.V	2	0.9

تشير الأحرف المشتركة في نفس العمود إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات

• شدة إصابة السوق:

بيّنت النتائج الموضحة بالجدول (5) بأن المعاملة (10) التي أضيف فيها عوامل مكافحة الحيوية الثلاثة بشكل مجتمع قد أظهرت تأثيراً أكبر في خفض شدة الإصابة على السوق بشكل معنوي حيث وصلت نسبتها حتى (11.44%) مقارنة بالشاهد المعدى بالفطر الممرض (المعاملة 2) الذي بلغت فيه نسبة شدة الإصابة (89.43%)، كما تفوقت هذه المعاملة معنوياً على بقية المعاملات الأخرى. عند اضافة فطريات الميكوريزا انخفضت النسبة المئوية لشدة الإصابة إلى (25%) وكانت الفروق معنوية بينها وبين المعاملتين *T.harzianum* و *T.viride* حيث بلغت النسب فيهما على التوالي (33.33% ، 41.67%) والتي بقيت الفروق بينهما ظاهرية، وبمقارنة تأثير عوامل مكافحة الحيوية بتأثير المبيد الكيميائي نجد أن معاملات فطريات الميكوريزا و *T.harzianum* و *T.viride* تفوقت جميعها معنوياً على معاملة المبيد حيث كانت نسبة شدة الإصابة فيه (52.20%)، وعند اضافة المبيد الكيميائي بشكل مشترك مع كل عامل من عوامل مكافحة الحيوية انخفضت شدة الإصابة مقارنة بالشاهد المصاب لكن بقيت الفروق ظاهرية فيما بينها، وبينها وبين المعاملات التي أضيف فيها كل عامل بشكل مستقل، ما عدا النوع *T.viride* فقد بلغت نسبة شدة الإصابة (41.67%) أما بوجود المبيد الكيميائي مع النوع *T.viride* أصبحت النسبة (30.9%) وبذلك كانت الفروق معنوية بين المعاملتين. بوجود فطريات الميكوريزا بشكل مشترك مع *T.harzianum* ومع *T.viride* خفضت شدة الإصابة إلى (20.5%) و (22.23%) على التوالي حيث تفوقت معنوياً على المعاملات التي أضيفت فيها الأنواع بشكل منفرد وهذا يدل على تآزر عوامل مكافحة الحيوية في خفض شدة الإصابة.

• شدة إصابة الدرنات:

أظهرت النتائج أن جميع المعاملات قد خفضت عدد الأجسام الحجرية المتشكلة على الدرنات وبذلك انخفضت نسبة شدة الإصابة بشكل معنوي مقارنة مع الشاهد المصاب. وعند مقارنة المعاملات مع بعضها حصلنا على أدنى شدة إصابة عند اضافة كل من فطريات الميكوريزا و *T.harzianum* و *T.viride* مع بعضها حيث وصلت النسبة إلى (7.03%) وكانت الفروق معنوية بين هذه المعاملة وبقية المعاملات، تليها بعد ذلك المعاملة التي أضيف فيها *T.harzianum* مع *T.viride* والتي بلغت فيها شدة الإصابة (13.68%) وتفوقت هذه المعاملة على كلا المعاملتين اللتين استخدم فيهما كل نوع على حدى، أي أن عند اضافة نوعين أو أكثر من عوامل مكافحة الحيوية يؤدي خفض شدة الإصابة وهذا يدل على التأثير المشترك لهذه الفطريات على المسبب المرضي حيث خفّضت من قدرته على تشكيل الأجسام الحجرية وزادت القدرة التضادية من خلال الآليات المختلفة. أما عند مقارنة تأثير المبيد مع تأثير العوامل الحيوية نجد أن شدة الإصابة انخفضت بشكل أكبر في معاملة فطريات الميكوريزا ومعاملة

T.harzianum ومعاملة *T.viride* حيث بلغت النسبة على التوالي (20.46%، 20.78%، 23.98%) منه في معاملة المبيد الذي وصلت النسبة فيه إلى (34.58%)، كما أنه بوجود المبيد مع كل عامل من عوامل مكافحة أدى إلى خفض شدة إصابة الدرنات لكن بقيت الفروق ظاهرية مع المعاملات التي كان فيها كل عامل منفرد وهذا يدل على أن وجود المبيد الكيميائي مع العوامل الحيوية ساهم في تقليل قدرة المسبب المرضي على تشكيل الأجسام الحجرية وبالتالي الحصول على أقل شدة إصابة (جدول 5).

تشابهت النتائج التي توصلنا إليها مع عدد من الباحثين فقد تبين مع صالح وعبود (2017) أن أقل شدة إصابة بالفطر *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersci* على نباتات البندورة كانت في المعاملة التي تحتوي على فطريات الميكوريزا والنوع *T. harzianum* والتي بلغت (22.21%)، كما اتفقت أيضاً مع Bolar (2000) الذي أشار إلى دور النوع *T. harzianum* وفطر الميكوريزا *Glomus mosseae* في خفض شدة الإصابة بالفطريات الممرضة للنبات من خلال تقليل افراز المسبب المرضي للمواد السامة ومن خلال انتاج الأنزيمات المحللة التي تكون مسؤولة عن القدرة التضادية ضد المسببات المرضية، وتوافقت أيضاً مع ما ذكره Amer و Abou-El-Seoud (2008) عند استخدامه الفطر *T.harzianum* والفطر *Glomus intraradices* لخفض شدة الإصابة بالمسبب المرضي *R.solani* حيث تبين معه أن تطبيق المعاملة بالفطر *T.harzianum* قد خفض نسبة الإصابة إلى 31.85% مقارنة بالشاهد، بينما انخفضت هذه النسبة إلى 24.20% في المعاملة التي استخدم فيها الفطر *Glomus intraradices* أما عند اضافة النوع *T.harzianum* والفطر *Glomus intraradices* بنفس المعاملة أدى إلى تخفيض نسبة الإصابة بفاعلية أفضل من اضافة كل فطر بشكل منفرد حيث وصلت النسبة إلى 10.86%، وانسجمت النتائج مع Attia و زملاؤه (2004) الذي وجد أن تطبيق كلاً من بكتريا *Bacillus subtilis* أو الفطر *Glomus spp.* أو النوع *T.harzianum* بشكل منفرد أو كل نوعين معاً أو بشكل خليط للأنواع الثلاثة على نباتات البندورة ضمن البيت الزجاجي أدى إلى زيادة في نمو هذه النباتات وأعطى زيادة في الغلة اضافة إلى دورها الفعال في مكافحة الفطر المرض *fusarium oxysporum* وخفض شدة الإصابة على نباتات البندورة. وتشابهت مع Aly و Hussein (2009) الذي أظهرت نتائجه أن كلاً من فطريات الميكوريزا والنوع *T.viride* قد قيّدت بشكل كبير من انتشار كلا الفطرين الممرضين *R.solani* و *F.solani* في أنسجة جذور نباتات الشوندر السكري، حيث انخفضت شدة الإصابة بالفطر *R.solani* إلى 6.2% وبالفطر *F.solani* إلى 5% عند استخدام فطريات الميكوريزا، أما عند اضافة النوع *T.viride* انخفضت شدة الإصابة بالفطر *R.solani* إلى 6% وبالفطر *F.solani* إلى 5% وذلك مقارنة مع الشاهد المصاب بكل فطر على حدى. وتوافقت نتائجنا أيضاً مع Leta و selvaraj (2013) حيث وجد أن اضافة النوع *T.harzianum* ATh1 بشكل مشترك مع الفطر *Glomus aggregatum* أعطى زيادة كبيرة في نمو نباتات البصل وخفض من نسبة

الاصابة بمرض العفن الأبيض المتسبب عن الفطر *Sclerotium cepivorum* فقد وصلت نسبة الاصابة إلى 33.8%، أما عند اضافة النوع *T.viride* ATv1 مع الفطر *G.aggregatum* حصل على نسبة اصابة بلغت 40.25% مقارنة مع الشاهد المصاب الذي كانت نسبة الاصابة فيه 90.5%.

جدول 5: تأثير عوامل مكافحة الحبيوية على شدة إصابة سوق ودرنات البطاطا

المعاملة	% شدة إصابة السوق	% شدة إصابة الدرنات
شاهد سليم	0 a	0 a
شاهد مصاب	89.43 h	77.78 h
ميكوريزا	25 cde	20.46 def
مبيد + ميكوريزا	22 cd	18.12 cde
مبيد + <i>T. harzianum</i>	26.81 cde	20.50 def
مبيد + <i>T. viride</i>	30.90 de	21.33 ef
مبيد	52.20 g	34.58 g
ميكوريزا + <i>T. harzianum</i>	20.50 bc	15.48 cd
ميكوريزا + <i>T. viride</i>	22.23 cd	20.38 def
ميكوريزا + <i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	11.44 b	7.03 b
<i>T. harzianum</i>	33.33 ef	20.78 def
<i>T. viride</i>	41.67 f	23.98 f
<i>T. viride</i> + <i>T. harzianum</i>	24.67 cde	13.68 c
LSD	9.075	5.712
% C.V	3.4	4.5

تشير الأحرف المشتركة في نفس العمود إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات

سابعاً: الاستنتاجات

- 1- أبدت فطريات *T. harzianum* و *T. viride* قدرة عالية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*.
- 2- تبين أن استخدام فطريات الميكوريزا بشكل مفرد أو مشترك مع الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Trichoderma* قد خفّض من شدة الإصابة بالعامل الممرض *R. solani* وأعطى زيادة في نمو نباتات البطاطا وانتاجها.
- 3- وجد أن المبيد الفطري مون كت ذو كفاءة عالية في تثبيط الفطر الممرض، ولم يظهر له أي تأثير سلبي على الفطريات الجذرية (الميكوريزا) أو فطريات التريكوديرما، كما أن وجوده بشكل مشترك مع هذه الفطريات عزّز من فعاليتها وقدرتها على خفض شدة الإصابة بالفطر الممرض *R. solani*.

ثامناً: التوصيات والمقترحات

- 1- اضافة فطريات الميكوريزا و فطريات التريكوديرما بشكل مشترك إلى التربة أو معاملة البذار قبل الزراعة واعتمادها في برامج مكافحة الحيوية وذلك بغية حماية النبات وتحسين الانتاج.
- 2- ادراج مكافحة الحيوية ضمن برامج مكافحة المتكاملة للأمراض البطاطا في زراعة البطاطا مما يقلل من استخدام المبيدات ذات الأثر الضار على الانسان والبيئة.
- 3- تطوير مكافحة الحيوية للعوامل الممرضة المنقولة بالتربة باستخدام فطريات الميكوريزا وفطريات التريكوديرما وذلك بتلقيح النباتات بها في المشاتل لتحسين نمو النباتات وزيادة تحملها للأمراض قبل نقلها إلى الحقل.
- 4- متابعة العمل لتنفيذ استراتيجيات استخدام فطريات مكافحة الحيوية، ويكون ذلك بتعريف أنواع هذه الفطريات والموجودة مع كل نبات ثم عزلها واستخدامها مع نفس النبات وفي نفس الظروف التي عزلت منها.

تاسعاً: المراجع

9-1- المراجع العربية

- أبو السل، أحمد عبدالله. 2013. مكافحة الميكروبية لمرض العفن الرمادي *Botrytis cinerea* Pers باستخدام عزلات من فطر *Trichoderma* spp. على نبات الفريز في المنطقة الجنوبية من سورية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة دمشق. عدد الصفحات 79.
- الأشقر، كمال و عماد القاضي. 2000. دراسة أولية للفطريات الجذرية (*Mycorrhizae*) في سورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية. 70-16:59.
- الأشقر، كمال، ومحمد حسين علي. 2007. دراسة الفطريات الجذرية الحويصلية الشجرية (Vesicular Arbuscular Mycorrhizas) لدى بعض الأنواع النباتية في ترب سورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، 23(1): 61-75.
- البهادلي، هيثم علي. 1994. مسح حقلي لفطريات الميكوريزا وسط العراق، والتفاعل مع أمراض النبات. جامعة بغداد، العراق. 100 صفحة. (أطروحة ماجستير).
- الحمداني، نور عبد الحافظ. 2009. تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية وطرق مقاومة حيوية وكيميائية أخرى لمقاومة الفطريات المسببة لموت بادران وتعفن جذور اللوبيا. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.
- العبيدي، ضحى إسماعيل. 2007. تحسين كفاءة المقاوم الحيوي *T. viride* باستخدام السكر المتعدد المايكروبي لمقاومة الفطريات المصاحبة لبذور الباميا. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.
- الشي، نجوى بشير. 2013. تأثير بعض أنواع المبيدات الاحيائية الفطرية والبكتيرية في موت بادران وتعفن جذور الباميا في البيت الزجاجي. مجلة علوم الرافدين، 24(5): 16-37.
- المجموعة الاحصائية السنوية. 2002. وزارة الزراعة و الاصلاح الزراعي في سوريا، مديرية الاحصاء و التخطيط، قسم الاحصاء الزراعي.
- بوراس، ميتادي، 1993. انتاج محاصيل الخضر (الجزء النظري)، منشورات جامعة دمشق، ص: 239-255.

- بياعة ، بسام . 1991 . أمراض محاصيل حقلية ص: 341- 371 منشورات جامعة حلب - كلية الزراعة .
- حسون، ابراهيم خليل. 2005. مكافحة البيولوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* kuhn. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- حيدر، أسما؛ خالد العسس؛ وكمال الأشقر. 2011. تأثير التفاعل التضادي بين نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* والفطر الميكوريزي *Glomus mosseae* في تحفيز نمو نبات الباذنجان. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية. 7: 589-601.
- خريبة، محمد عماد محمد. 2015. تأثير الميكوريزا الداخلية في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة من خلال تنشيط افراز بعض الهرمونات والإنزيمات الدفاعية. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين. عدد الصفحات 124.
- صالح، يحيى عاشور؛ وسلام نجم عبود. 2017. تقييم كفاءة التداخل بين العامل الاحيائي *Trichoderma harzianum* وفطر المايكورايزا *Glomus mosseae* ضد مرض الذبول الفيوزاري في الطماطا المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* . كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق: <https://www.researchgate.net/publication/318300039>
- عابد، ساهر حافظ، صديق محمد الحسن، طارق السيد علي الشريف. 2013. التضاد الحيوي بين فطر التريكوديرما *Trichoderma* spp. وفطر الرايزوكتونيا *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض القشرة السوداء في البطاطس معملياً. المجلة اليمنية للعلوم الزراعية والبيطرية 1(1): 64- 75.
- عبدو، رانيا حاج، بسام بياعة وعباس عباس. 2012. تحديد المجموعات التشابكية لمجتمع الفطر *Rhizoctonia solani* Kühn. على البطاطا/البطاطس في سوريا. مجلة وقاية النبات العربية، 1: 3-10.
- فضول، جودة، 1991، أمراض المحاصيل الحقلية، منشورات جامعة دمشق - كلية الزراعة. ص: 400-404

- Abbott, L.K. and Robson, A.D. 1991.** Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. J. Agric. Ecos. Envir. 35: 121-150.
- Abdel-Fattaha, G.M.; EL-haddadb, S.A.; hafezc, E.E. and Rashadd, Y.M. 2011.** Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. Microbiological Research. **166**: 268-281.
- Abdel-Kader, M.M.; El-Mougy, N.S.; Aly, M.D.E; Lashin, S.M.; El-Mohamady, R.S. 2012.** Soil drench with fungicides alternatives against root rot incidence of some vegetables under greenhouse conditions. Inter. J. Agric. Forest. 2(2), 61-69.
- Abo-Elnaga, Heidi,I.G. 2012.** Biological control of Damping off and root rot of wheat and sugar beet with *Trichoderma harzianum*. Plant Pathology Journal, 11:25-31.
- Aghighi S, Bonjar GHS, Rawashdeh R, Batayneh S, Saadoun I . 2004.** First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against *Alternaria solani*, *Alternaria alternate*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahlia* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian J. Plant Sci., 3(4): 463-471.
- Agrawal,S.C.,Khare,M.W.and Agrawal,P.S. 1977.** Biological control of *Sclerotia rolfsii* causing collar rot of lentil. Indian Phytopathology.30:176-179
- Agrios,G.N. 2005.** Plant Pathology 5rd ed. Academic Press, New York. 304-306.
- Ahamed. S., and Srivastava.M.2000.** Biological control of dry rot of chickpea with plant products and antagonistic microorganisms. Annals of Agriculture Research. 21:450-451.
- Aher, R.K.; Bhalerao, A.L.; Khapake, S.L. and Deshmukh, R.N. 2011.** Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Helianthus annuus*. Review of Research. 3: 1-4.
- Allen, D.J. 1997.** Food legumes in soil borne disease of tropical crops. Hillocks, R.J. and Waller, J.M.CAB International University Prres. Cambridge. PP. 452
- Aly, M.H.and Y.Hussein Manal.2009.** Vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Trichoderma viride* as deterrents against soil-borne root rot disease of sugar beet. Sugar Tech,11(4):387-391
- Amer, M.A.,and Islam I. Abou-El-Seoud.2008.** Mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* as biocontrol agents for suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off disease of tomato. Alexandria University, EGYPT: <https://www.researchgate.net/publication/24024683>

- Andera S. Mohammed, Siddig M. El Hassan, Mustafa M.A. Elballa and Elsiddig A.E. Elsheikh.2008.** The Role of *Trichoderma*, VA Mycorrhiza and Dry Yeast in the Control of Rhizoctonia Disease of Potato (*Solanum tuberosum* L.). University of Khartoum, Shambat, Sudan.
- Anderson, N.A. 1982.** The Genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. Annual Review of Phytopathology, 20:329-347.
- Anonymous .2008.** What is Rhizoctonia bare patch? Grains Research Development Corporation (GRDC). Fat sheet www.gradc.com.
- Artursson, V.; Finlay, R.D. and Jansson, J.K. 2006.** Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8, 1-10.
- Attia, M.; Hamed, H. A.; Turky, A. S. 2004.** Influence of root colonization with *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizae on promoting tomato seedling, yield and protection against *Fusarium* crown and root rot. Bulletin of the National Research Centre (Cairo), 29 (3): 347-360.
- Azcon, A.C. and Barea, J.M. 1996.** Arbuscular mycorrhiza and biological control of soil-borne plant pathogens: an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6, 457-464.
- Bailey, B.A. and Lumsden, R.D. 1998.** Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. In: *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, Biological Control and Commercial Applications* (Eds. C.P, Kubicek., G.E, Harman and K.L, Ondik). Taylor and Francis, London. Pp: 185-204.
- Baker CJ, Bateman DF .1978.** Cutin degradation by plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 68:1577-1584.
- Baker KF. 1970.** Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: Parmeter JR, Jr, editor. *Rhizoctonia solani: biology and pathology*. Berkeley, CA: California University Press, p. 124-148.
- Beagle-Ristaino JE; Papavizas GC.1995.** Biological controls of Rhizoctonia stem canker and black scurf of potato. *Phytopathology* 75:560-564.
- Bertagnolli BL, Dal Soglio FH, Sinclair JB .1996.** Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48:145-160
- Bisset, J.1991.** A revision of the genus *Trichoderma*. In *Frageneric classification* Can.J.Bot. 69:2357-2372.

- Bolar, J.P.; Norelli J.L.; Wong K.W.; Hayes.; Harman G.E. and Al dwinckle H.S. 2000.** Expression of endochitinase from *Trichoderma harzianum* in transgenic apple increases resistance to apple scab and reduce vigor .Phytopathology . 90: 72-77
- Bonfante, P. and Genre. A. 2010.** Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in Mycorrhizal symbiosis. Nature Communication. 10: 1-11.
- Brown EA., McCarter SM. 1976.** Effect of a seedling disease caused by *Rhizoctonia solani* on subsequent growth and yield of cotton. Phytopathology 66:111-15.
- Cardoso, I. M., and T. W. Kuuper. 2006.** Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agriculture, Ecosystems and Environment, 116: 72-84.
- Carling, D.E.1996.** Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. Pages: 37-47. [In:] *Rhizoctonia species taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control.* (Sneh, B.; S. Jabaji-Hare; S. Neate and G. Dijst [editor]). Dordrecht, Netherlands. Kluwer Academic Publishers.
- Carling, D.E. and D.R. Sumnar. 1992.** *Rhizoctonia* Methods for Research on Soil-borne Phytopathogenic Fungi. Pages 157-165. L.L. Singleton, J.D. Mihail and C.M. Rush (eds.). American Phytopathological Society: St, Paul, MN, USA.
- Carling, D.E., Leiner R.H. and Westphale. P.C 1989 .** symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of Potato induced tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG3. Potato J. 66 : 693 – 701.
- Carling, D.E., R.E. Baird, R.D. Gitaitis, K.A. Brainard and S. Kuninaga. 2002.** Characterization of AG-13, a newly reported anastomosi group of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 92: 893-899.
- Carling, D.E.; S. Kuninaga and K.A. Brainard .2002b.** Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacers sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group2 (AG-2) and AG BI. Phytopathology, 92: 43–50.
- Carling,D.E., C.S.Rothrocks G.C.Mac Nish, M.W. Sweetinghom and K.A.Brainard.1994.** Carcterization of anastomosis group11(AG11) of *Rhizoctonia solani* .Phytopathology. 84.: 1387-1393.
- Ceresini, P. 1999.** *Rhizoctonia solani*. North Carolina State university, Carolina, USA p.728
- Chet, I. and Baker, R. 1981.** Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71, 286-290.
- Chet, I., Harman, G.E. and Baker, R. 1981.** *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microb. Ecol. 7:29-38.

- Cripps, C.; Smith, L.; Carolin, C. and Lapp, T.J. 2008.** *Ecto Mycorrhizal fungi with white bark pine*. Nutcracker Notes. 14: 12-14.
- Dalpe, Y. and M, Monreal. 2004.** Arbuscular Mycorrhizae inoculum to support sustainable cropping systems, online http://www.Plant_management_network_org/pub/cm/review/2004/am_fungi.
- Daniels, B. A., and H. D. Skipper. 1982.** Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In "Methodes and principles of mycorrhizal research" (N. C. Schenck eds.). American Phytopathological Society, St. Paul. Minn. Pp. 29-37.
- Demirci E, Döken MT .1998.** Host penetration and infection by the anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn isolated from potatoes. Transactions of Journal of Agriculture and Forestry 22:609-613.
- Dennis, C.J. and Webster, J. 1971a.** Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 25-29.
- Elad, Y., David, D.R., Levi, T., Kapat, A. and Kirshner, B. 1999.** *Trichoderma harzianum* T-39-mechanisms of biocontrol of foliar pathogens. In: Modern fungicides and antifungal compounds II. (Eds. H. Lyr, P.E. Russell, H.W. Dehne, and H.D. Sisler). Andover, Hants, UK: Intercept. Pp:459-467.
- El-Kafrawy, A.A. 2002.** Biological control of Bean damping off caused by *Rhizoctonia solani*, Egypt. J. Agric Res. 80, 57-70.
- EL-Katatny, M.H., Gudelj, M., Robra, K.H., EL-Elnaghy, M.A. and Gubitz, G.M. 2001.** Characterization of a chitinase and an endo-b-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. Applied Microbiol. And Biotechnol. 56: 137-143.
- El-kot,G.A.N.2008.** Biological control of black scurf and dry rot of potato. Egypt Journal of phytopathology. 36(1-2):45-56.
- Ercole,N. , Nipoti, p. Finessi , L . E and Manzali D. 1988.** Review of several years of research in Italy on the biological control of soil fungi With *Trichoderma* spp. J. Bulletin – OEpp. 18(1):95-102 .
- Erkol Demirci; Elif Dane; Cafer Eken. 2011.** In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. Turk J Biol. 35:457-462.
- FAO Stats. 2008.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- FAO Stats. 2013.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- FAO Stats.2017.**Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.

- Fiers, M.; C. Chatot and V. Edel-Hermann .2010.** Diversity of microorganisms associated with atypical superficial blemishes of potato tubers and pathogenicity assessment. *European Journal of Plant Pathology*, 128:353-371.
- Fokkema, N.J. 1976.** Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces, In: *Microbiology of aerial plant surfaces*. C.H.Dickinson and T.F.Preece (Editors). Academic press, London. Pp: 487-506.
- Frank, J. A. 1981.** Rhizoctonia canker (black scurf). P. 52– 54 in : compendium of potato Diseases. W. J. Hooker. Ed. American Phytopathological Soc., St. Paul , MN. 123pp.
- Gerdemann, J. W., and T. H. Nicolson. 1963.** Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46: 235-244.
- Gromovikh, T. I Gukasian, V.M Golovanova, T.I , and Shmarlovskaya, S.V. 1998.** *Trichoderma harzianum* as a factor enhancing tomato plants resistance to the root rotting pathogens. *J. phytopathology* 32 (2): 73 –78.
- Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, MD., Mateos, PF., Bridge, PD., Monte, E., and Garcia-Acha, I. 1997.** Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Appl Environ Microbiol.* 63: 3189-3198.
- Guleria, S.; R. Aggarwal; T. S. Thind and T. R. Sharma .2007.** Morphological and pathological variability in rice isolates of *Rhizoctonia solani* and molecular analysis of their genetic variability. *Journal of Phytopathology*, 155: 654-661.
- Ha, T.N. 2010.** Using *Trichoderma* species for biological control of plant pathogens. Vietnam. *J. SSAAS*, 16, 17-21.
- Hall, B.; Davies, K.; and Wicks, T. 2001.** Biological and chemical control of *Rhizoctonia*. Plant Research centre, South Australian Research and Development Institute. 49 pp.
- Hanson LE .2000.** Reduction of Verticillium Wilt Symptoms in Cotton Following Seed Treatment with *Trichoderma virens*. *J.Cotton Sci.* 4:224-231.
- Harikrishnan, R. ; Yang , X. B. 2004.** Recovery of anastomosis group of *Rhizoctonia solani* from different latitudinal position and influence of temperatures on their growth and survival. *Plant Disease*, 88, 817-823.
- Harman, G.E. 2000.** Myths and dogmas of biocontrol derived from research *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis.* 84, 377-394.
- Harman, GE., Howell, CR., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004.** *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews.* 2:43-56.

- Harrier LA, Watson CA .2004.** The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soilborne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Manage. Sci.* 60: 149-157.
- Hawkes , J.G. and Francisco-ortega . 1993 .** The early history of the potato in Europe . *Euphytica* 70 . pp : 1 – 7 .
- Hodge, A., and C. Campbell. 2001.** An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature*, 413: 297-299.
- Hoitink HAJ, Madden LV, Dorrance AE .2006.** Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathol.* 96:186-189.
- Homma, Y., Y. Yamashita and M. Ishii. 1983.** A new anastomosis group (AG-7) of *Rhizoctonia solani* Kuhn from Japanese radish fields. *Phytopathological Society of Japan*, 51: 372-373.
- Howell ,C.R. 2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases : The history and evolution of current concepts. *Plant disease* 87:4-10.
- Ianson, D. and Smeenk, J. 2010.** Mycorrhizae in the Alaska landscape, HGA-00026, University of Alaska Fairbanks, <http://www.uaf.edu/>
- Jacob, C. K, Sivaparkasam , k and Jeyarajan, R.1988.** Evaluation of some plant extracts and fungal antagonists for the biological control of per-emergence damping – off of brinjal (*solanum melongena*) . *Journal of Biological Control*. 2(2):117-119.
- Jayasinghe CK, Wijayarathne SCP, Fernando THPS .2004.** Characterization of cell wall degrading enzymes of *Thanatephorus cucumeris*. *Mycopathologia* 157:73-79.
- Johnson, L.F., Curl, E.A., Bond, J.H., and H.A, Fribourg.1959.** Methods for studying soil Microflora-Plant Disease Relationships. Burgess Publishing Co., Minneapolis. MN. 178pp.
- Joseph, R. K. 1997.** An examination of the interactions between *Garlic mustard* and vesicular arbuscular Mycorrhizal (VAM) fungi (*Gigaspora rosea*). *Mycorrhizal Thesis and Dissertations*, 58: 4021
- Justesen A.F.; D. Yohalem; A. Bay and M. Nicolaisen .2003.** Genetic diversity in potato field populations of *Thanatephorus cucumeris* AG-3, revealed by ITS polymorphism and RAPD markers. *Mycological Research*, 107:1323-1331.

- Karsa, E. Mostafa; R.Z. Mohammad and H.S. Halel. 2010.** Transformation of potato (*Solanum tuberosum* CV. Savalan) by chitinase and B-1,3-glucanase genes of mycoparasitic fungi towards improving resistance to *Rhizoctonia solani* AG-3. Iran Journal of Bio-technology 8:73-81.
- Kawaguchi, M. and Minamisawa, K. 2010.** Plant-microbe communications for symbiosis. Oxford Journals Plant Cell Physiology. 51: 1377-1380.
- Keijer J .1996.** The initial steps of the infection process in *Rhizoctonia solani*. In. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Eds. Sneh B, Jabaji-Hare S, Neate S, Dijst G. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. pp. 149-162.
- Kendrick B .1992.** The Fifth Kingdom. Mycologia Public. 379 pp.
- Khan , M and Haque , N .1994 .** Effect of pre-emergence herbicides on weed control and potato yield . j . Agric . Res . 32 (2) pp :157- 164 .
- Ko, W.H.H. and F.K. Hora. 1971.** A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 61:707-710.
- Komatsu, M. 1976.** Studies on *Hypocrea*, *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to shiitake , *Lentinus edodes*. Rep. Tottori Mycol. Inst., 13, 1-113.
- Kuninaga, S., R. Yokosawa and A. Ogoshi. 1978.** Anastomosis groupings of *Rhizoctonia solani* Kuhn isolated from non-cultivated soils. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 44: 591-598.
- Larsen, J. and Jakobsen, I. 1996.** Interactions between a mycophagous *Collembola*, dry yeast and the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycorrhiza* 6, 259-264.
- Larsen, J.; Graham, J.H.; Cubero, J. and Ravnskov, S. 2011.** Bio control traits of plant growth suppressive Arbuscular Mycorrhizal fungi against root rot in Tomato caused by *Pythium aphanidermatum*. European Journal of Plant Pathology. 133: 361-369.
- Lees, A.K.; D.W. Cullen; L. Sullivan and M.J. Nicolson .2002.** Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. Plant pathology, 51: 293-302.
- Leta, Ararsa and Thangavel Selvaraj. 2013.** Evaluation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Trichoderma* Species for the Control of Onion White Rot (*Sclerotium cepivorum* Berk). Journal of Plant Pathology & Microbiology, 4:1
- Mandelbaum, C.I. and Piche, Y. 2000.** The role of root exudates in Arbuscular Mycorrhizae initiation .In mycorrhizal biology. Edited by K.G. Mukerji, B.P. Chamola and J. Singh. Kluwer Academic / Plenum Publishers. New York. 172 pp.

- Manila, R. and Nelson, R. 2013.** Nutrient uptake and promotion of growth by Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Tomato and their role in Bio-protection against the tomato wilt pathogen. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 3: 42-46.
- Marschner H .1995.** Mycorrhizas. Mineral Nutrition of Higher Plants. (Second Edition), Academic Press. p:566-595.
- Masadeh, B. 2005.** Biological control of *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) on Tomato using arbuscular Mycorrhizal fungi and rhizobacteria. Hannover University, Germany. Pp115. (Doctoral thesis).
- Mathew,K.A. and Gupta, S.K. 1998.** Biological control of root rot of French bean caused by *Rhizoctonia solani*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*.28:202-205.
- Matloob, A.A.H. and Juber, K.S. 2013.** *Biological control of bean root rot disease caused by Rhizoctonia solani under green house and field conditions*. *Agric. Biol. J. N. Am.* 5: 512-519.
- Matsumoto, T.; W. Yamamoto and S. Hirane .1932.** Physiology and parasitology of the fungi generally referred to as *Hypochnus sasakii* Shirai. I. Differentiation of the strains by means of hyphal fusion and culture in differential media. *Journal of the Society of Tropical Agriculture*, 4:370-388.
- Mchinney, H.H. 1932.** Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seeding by *Helminthosporium sativum*. *J.Agric. Research* 26: 195-217.
- Mercier, J. and Manker, D.C. 2005.** Biocontrol of soil-borne diseases and plant growth enhancement in greenhouse soilless mix by the volatile-producing fungus *Muscodor albus*. *Crop Protection* 24, 355-362
- Muchovej, R. M. 2002.** Importance of mycorrhizae for agricultural crops. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Naito, S. .1996.** Basidiospore dispersal and survival. Pages: 197-205 [In:] *Rhizoctonia* Species. Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. (Sneh, B.; S. Jabaji-Hare; S. Neate, G. Dijst [editor]). Kluwer Academic. Dordrecht, Netherlands.
- Neate, S.M and J.H. Warcup. 1985.** Anastomosis grouping of some isolates of *Thanatephorus cucumeris* from Agricultural soils in South Australia. *Transactions of the British Mycological Society*, 85: 615-620.
- Nzanza, B.; Marais, D. and Soundy, P. 2011.** Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and Arbuscular Mycorrhizal fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 5: 425-431.

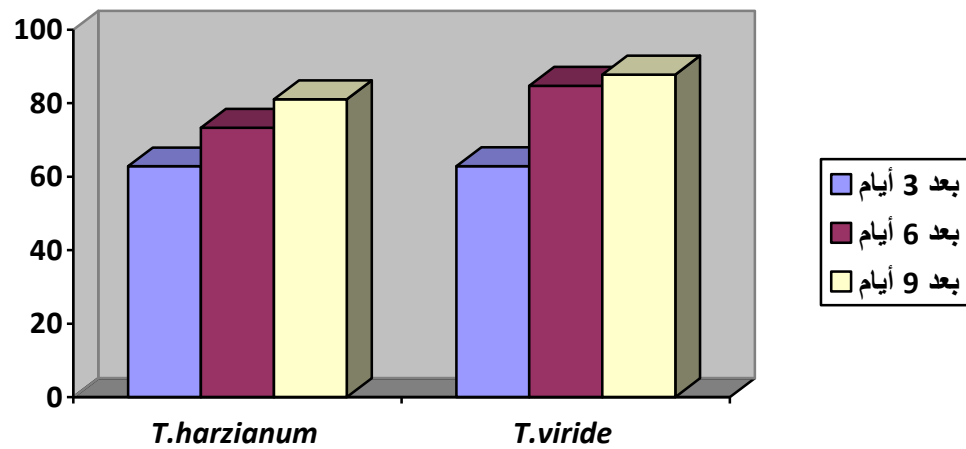
- Ogoshi A .1987.** Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Annual Review of Phytopathology 25:125-143.
- Ogoshi, A. 1975.** Grouping of *Rhizoctonia solani* Kuhn and their perfect stages. Review of Plant Protection Research, 8: 93-103.
- Ogoshi, A., R.J. Cook and E.N. Bassett. 1990.** *Rhizoctonia* species and anastomosis groups causing root rot of wheat and barely in the Pacific Northwest. Phytopathology, 80:784-788.
- Ousley MA, Lynch JM, Whipps JM .1994.** The effects of addition of *Trichoderma* inocula on flowering and shoot growth of bedding plants. Scientia Horticultu. 59: 147-155.
- Papavizas, GC. 1985.** *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology and potential for biological control. Annual Review of Phytopathology. 23: 23-54.
- Parmeter JR Jr, Whitney HS .1970.** Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In. *Rhizoctonia solani*: Biology and pathology. Ed. Parmeter JR Jr , University of California Press, USA. pp. 7-19.
- Parmeter JR, Jr, Whitney HS. 1970.** Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: Parmeter, JR Jr, editor. Biology and pathology of *Rhizoctonia solani*. Berkeley, CA: University of California Press. p. 20-31.
- Parmeter, J. R. . 1970.** *Rhizoctonia solani*, biology and pathology. *University of California Press Berkeley, London*.
- Parmeter, J.R.Jr., R.T. Sherwood and W.D. Platt. 1969.** Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology, 59: 1270-1278.
- Peltonen S .1995.** Comparison of xylanases production by fungal pathogens of barley with special preference to *Bipolaris sorokiniana*. Mycological Research 99:717-723.
- Pirazzi, R.; Rea, E. and Bragaloni, M. 1999.** Improvement of micronutrient uptake of valuable broadleaves in interaction with *Glomus mosseae*. Geomicrobiology Journal. 16: 79–84.
- Poldma, P., JaaKson, K., Merivee, A., Albrech, A. Metspalu, L.(ed), and Mitt,S. 2000.** *Trichoderma viride* promotes growth of cucumber plants. Proceeding of the international Conference: Development of environmentally friendly plant protection in the Baltic Region, Tartu, Estonia September 28-29, 2000. Transactions of the Estonian Agriculture University Agronomy. No. 209, 162-164.
- Rahman, M.A. and Bhattiprolu, S.L. 2005.** Efficacy of fungicides and mycorrhizal fungi for the control of damping-off disease in nurseries of Tomato, Chilli and Brinjal Crops. Karnataka J.Agric.Sci. 18: 401-406.

- Rauf, C.A., Ahmad, I. & Ashraf, M. 2007.** Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn isolates from potato in Pakistan. Pakistan Journal of Botany, 39(4): 1335-1340.
- Reddy, B.N.; Raghavender, C.R. and Sreevani, A. 2006.** Approach for enhancing mycorrhiza-mediated disease resistance of Tomato damping-off. Indian Phytopathology. 59: 299-304.
- Redecker, D.; Hijri, I. and Wiemken, A. 2003.** Molecular identification of Arbuscular Mycorrhizal fungi in roots: perspective and problems. Fol. Geobot. 38: 113-124.
- Remy, W., T. N. Taylor, H. Hass, and H. Kerp. 1994.** Four hundred-million year old vesicular arbuscular mycorrhizae. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91: 11841-11843.
- Rifai, M.A. 1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. Mycologia Pap. 116:1-56.
- Samuels, G.J. 1996.** *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. Mycological Res. 100: 923-935.
- Samuels GJ, Dodd SL, Gams W, Castlebury LA, Petrini O. 2002.** *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. Mycologia 94: 146–168.
- Sastrahidayat, I.R.; Djauhari, S.; Prasetya, B. and Saleh, N. 2011.** biocontrol of damping-off disease (*sclerotium rolfsii* sacc.) using actinomycetes and vsm fungi on Soybean and impact to crop production and microorganism diversity in rhizosphere zone. International Journal of Academic Research. 6: 114-119.
- Schubler, A. and Walker, C. 2010.** The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. Electronic version freely available online at www.AM-phylogeny.com.
- Schenck, N. C. 1982.** Can mycorrhizae control root disease?. Plant Disease Journal, 65: 231-234.
- Schultz, H. 1936.** Vergleichende Untersuchungen zur Ökologie, Morphologie, und Systematik der "Vermehrungspilzen" Arb. Biol. Reichsanst. Land und Forstwirtschaft. Berlin 22: 1-41.
- Schwarzott, D.; Walker, C. and Schubl, A. 2001.** *Glomus* The largest genus of the Arbuscular Mycorrhizal fungi (*Glomales*), is non-monophyletic. Molecular Phylogenetics and Evolution. 21: 190-197.
- Sharif, F. M, AL-Fadhal , F. A, OKasha, A.N. and Jamil, W.N 1988.** Biological control of *pythium aphanidermatum* on cucumber in the plastic greenhouse . J.of Agriculture and Water research plant production .7 (1): 99-109 .
- Sharma, P. 2011.** Complexity of *Trichoderma*, *Fusarium* interaction and manifestation of biological control. AJCS., 8, 1027-1038.

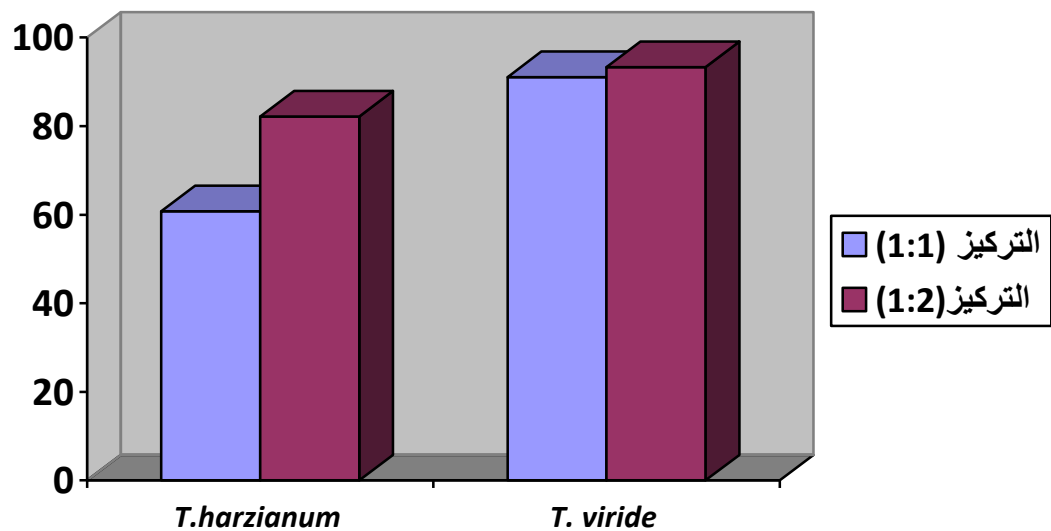
- Sjoberg, J. 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi, occurrence in Sweden and interaction with a plant pathogenic fungus in Barley. Swedish University of Agricultural Sciences, pp53. (Doctoral thesis).
- Smith , O. 1968.** Potato : Production , Storing , Processing . The AVI Pub , CO , Inc . Westport . Conv . 642 p .
- Smith, S.E. and Read, D.J. 1997.** Mycorrhizal Symbiosis (2nd Ed.). Academic Press, San Diego and London. 605 pp.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 2008.** Mycorrhizal symbioses. Academic Press, London, UK. 589 pp.
- Sneh, B.; S. Jabaji-Hare; S. Neate and G. Dijst .1996.** *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Kluwer Academic Publishers, London
- Spooner, D. M.; M. Ghislain; R. Simon; S. H. Jansky and T. Gavrilenko .2014.** Systematics, Diversity, Genetics and Evolution of wild and cultivated potatoes. Bot. Rev, 80: 283-383.
- Steven, J.; Scheuerell, D.M.S. and Walter, F.M. 2005.** Suppression of seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, and *Rhizoctonia solani* in container media amended with a diverse range of pacific northwest compost sources. Phytopathology. 5: 306-315.
- Stivers , L . 2005.** Crop profile : potatoes in Newyork . Cornell cooperative extension, Cornell university , 249 Highland Ave , Rochester , NY 14620 .
- Thangadurai, D.; Busso, C.A.and Hijri, M. 2010.** Mycorrhizal biotechnology. Published by Science Publishers. USA An imprint of Edenbridge Ltd., British Channel Islands. 225 pp.
- Vey, A., Hoagland, RE., and Butt, TM. 2001.** Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: Butt, TM., Jackson, C., Magan, N.(eds), Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential. CAB International, Bristol. Pp:311-346.
- Vinale, F.; Sivasthamparam, K.; Ghisalberti, E.L.; Marra, R.; Woo, S.L.; Lorito, M. 2008.** *Trichoderma* plant pathogen interaction. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1-10.
- Viterbo, A.; Inbar, J.; Hadar, Y.; Chet, I.2007.** Plant Disease Biocontrol and Induced Resistance via Fungal Mycoparasites. In: Environment and Microbial Relationships 2nd ed. The MycotaIv. (eds. C.P. kubicek and I.s. Druzhinina) Springer- Verlag Berlin Heidllberg, pp.127-146.
- Webster,J.,1964.** Culture studies on *Hypocrea* and *Trichoderma*.I. Comparison of the perfect states of *H.gelatinosa*, *H.rufa* and *H.sp.1*.Trans.Br.Mycol. Soc.47:75-96.
- Wharton, P.; W. Kirk; D. Berry and S. Snapp. 2007.** *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato. Michigan potato diseases, Extension Bulletin E-2994.

- Whipps, J.M. 2004.** Prospects and limitations for Mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*. 82: 1198–1227.
- Windham, M.T Elad . y, and Baker .R. 1986 .** A mechanism for Increased plant growth Induced by *Trichoderma* spp. *J. phytopathology* 76 (5) 518-521 .
- Woodhall, J.W.; A.K. Lees; S.G. Edwards and P. Jenkinson .2008.** Infection of potato by *Rhizoctonia solani*: effect of anastomosis group. *Plant Pathology*, 57:897-905.
- Yanar, Y., G. Yilmaz, I. Cosmeli and S. Coskun. 2005.** Characterization of *Rhizoctonia solani* isolates from Potatoes in Turkey and Screening Potato Cultivars for Resistance to AG-3 Isolates. *Phytoparasitica*, 33: 370-376.
- Yao, M.K.; Tweddell, R.J. and Desilets, H. 2002.** Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Mycorrhiza* 12, 235-242.

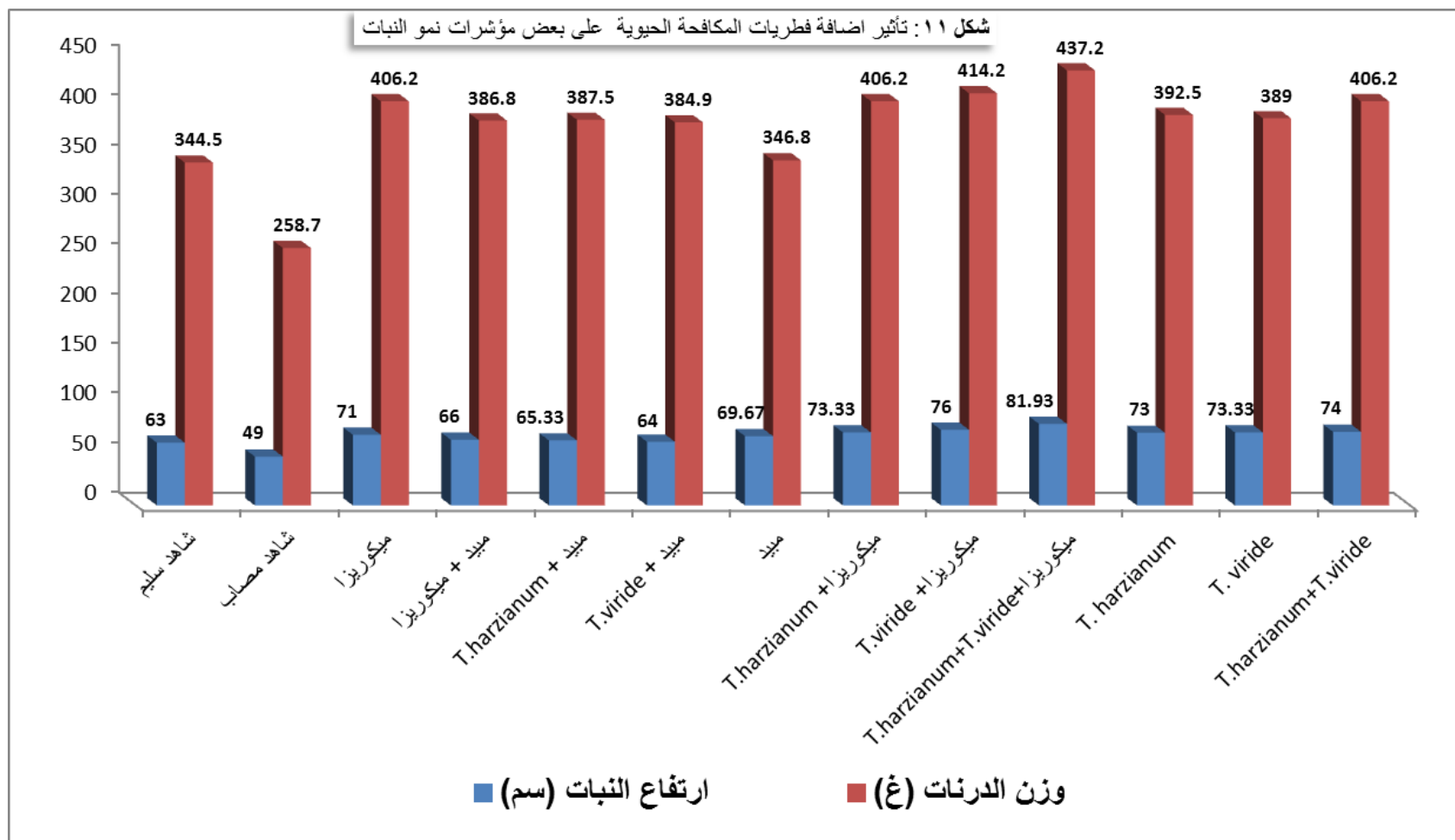
الشكل 9: النسبة المئوية للتثبيت



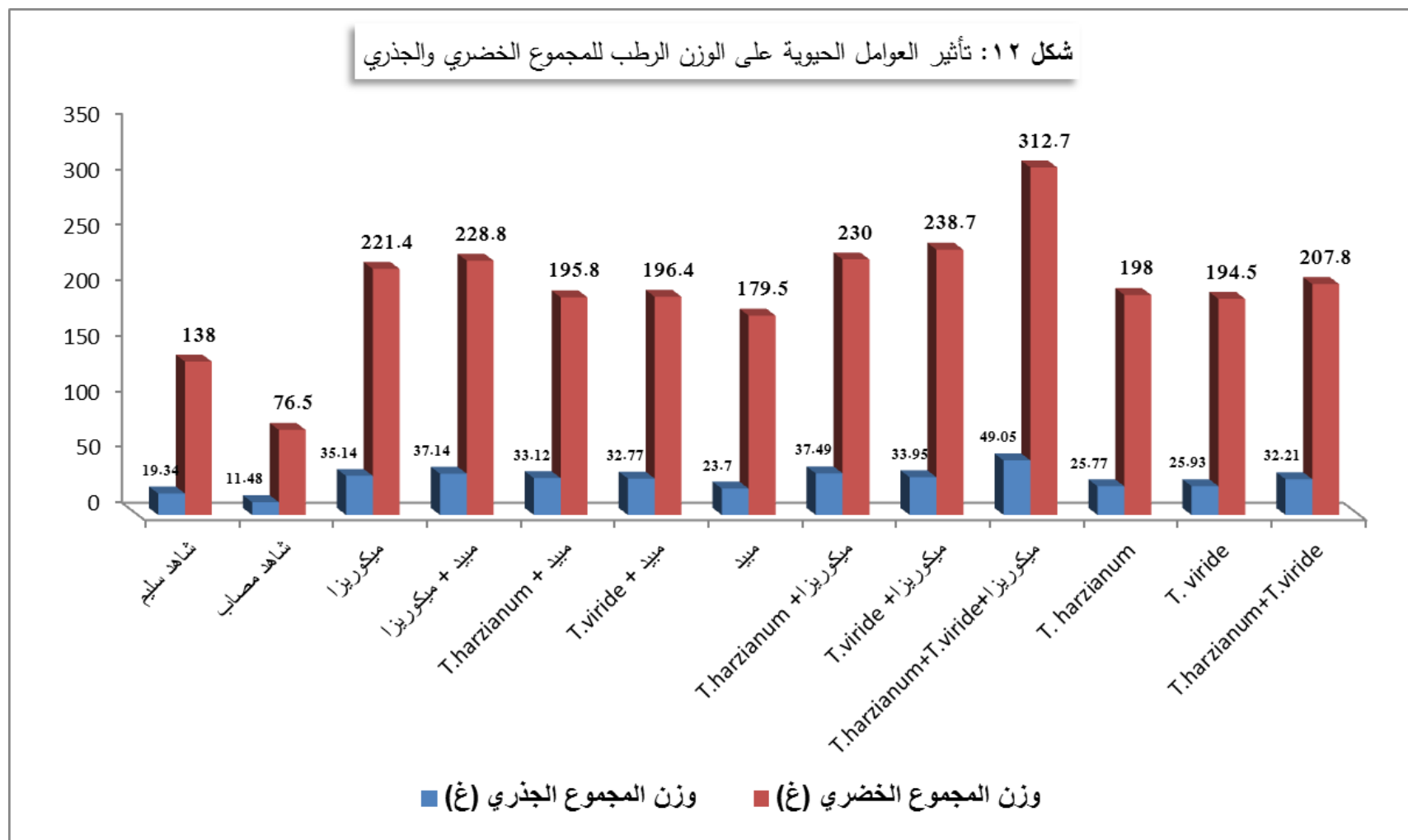
الشكل 10: نسبة تثبيط الرشاحة للفطر الممرض



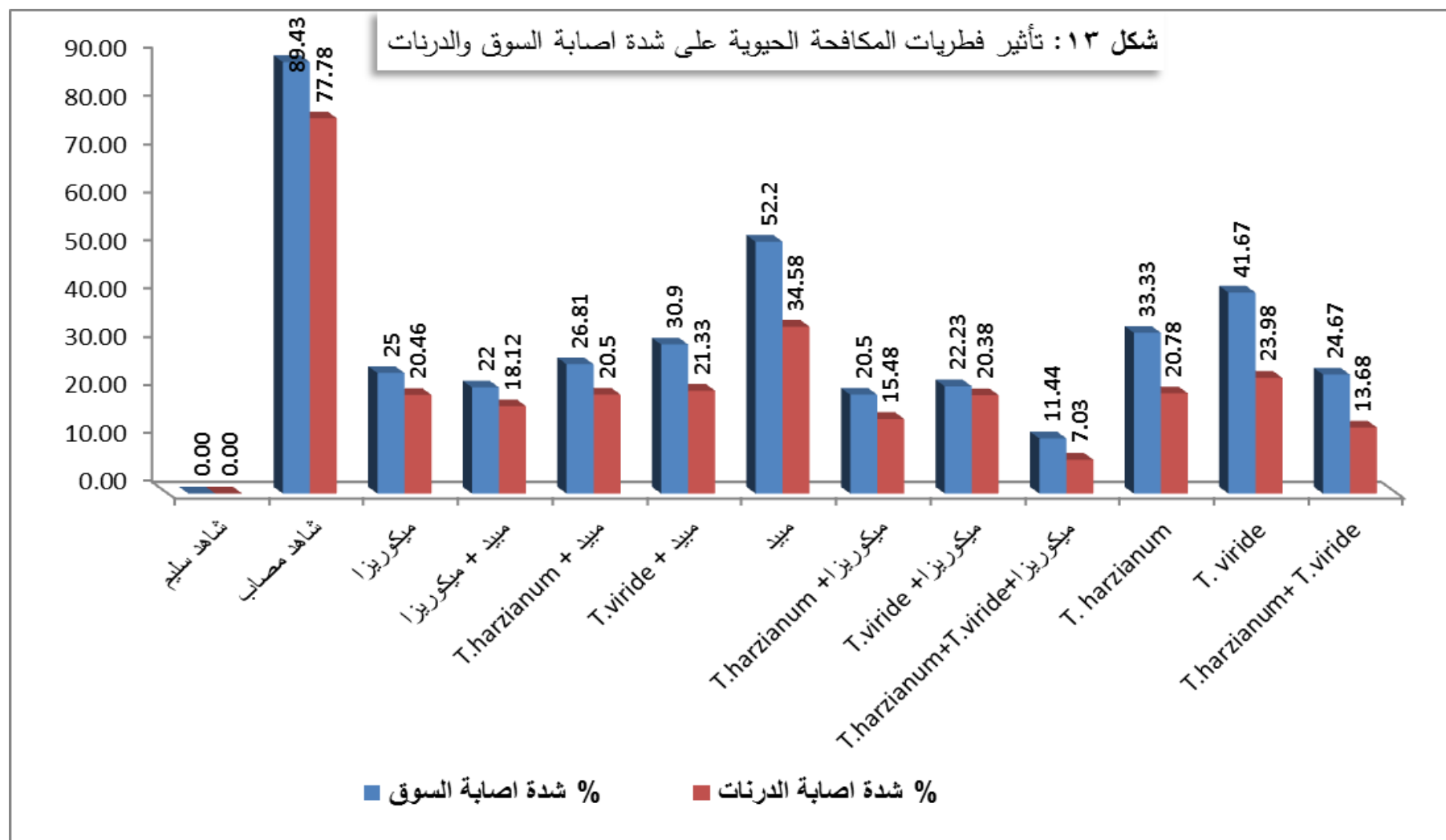
شكل 11: تأثير فطريات مكافحة الحيوية المدروسة على ارتفاع نباتات البطاطا ووزن الدرنات



شكل 12: تأثير اضافة عوامل المكافحة الحيوية على الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري



شكل 13: تأثير فطريات مكافحة الحويبة على شدة إصابة السوق والدرنات بالفطر *R. solani*



تجربة الأصص



مقياس Hall لتقدير شدة الإصابة على الدرنات بعد اضافة صور توضيحية		
		0 درنة سليمة
		1 20% من مساحة الدرنه مغطى بالأجسام الحجرية
		2 20%-40% من مساحة الدرنه مغطى بالأجسام الحجرية
		3 40% - 60% من مساحة الدرنه مغطى بالأجسام الحجرية
		4 60% - 80% من مساحة الدرنه مغطى بالأجسام الحجرية
		5 80% - 100% من مساحة الدرنه مغطى بالأجسام الحجرية