المكافحة الأحيائية لمسبب مرض التبقع الكلادوسبوري في نبات الباذنجان المتسبب عن الفطر *Cladosporium cladosporioides*

عبد النبي عبد الأمير مطرود

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة، جمهورية العراق، البريد الإلكتروني: abdu1988875@yahoo.com

الملخص

مطرود، عبد النبي عبد الأمير. 2018. المكافحة الأحيائية لمسبب مرض التبقع الكلادوسبوري في نبات الباذنجان المتسبب عن الفطر *Cladosporium cladosporioides*. مجلة وقاية النبات العربية، 36(3): 192-198.

هدف هذا البحث إلى امكانية مكافحة مرض التبقع الكلادوسبوري في نبات الباذنجان المتسبب عن الفطر *Cladosporium cladosporioides* باستخدام الفطور الأحيائية *Aspergillus niger*، *Trichoderma harzianum* و *T. koningii*. اختبر تأثير هذه الأحياء مختبرياً وفي الأصص. تم الحصول على ثلاث عزلات من الفطر *C. cladosporioides* من مناطق الأحيائية في خفض نمو الفطر الممرض في الوسط الزرعي بطاطس-دكستروز-آجار (PDA). اثبتت نتائج التجربة أن جميع تراكيز الرواشح أثرت في نمو الفطر الممرض، إذ تراوحت نسبة التثبيط بين 29.61 و 40.69%، كما أثرت أيضاً كثافات أبواغ الفطور الأحيائية بتراكيز 10، 20 و30 راشح/مل في خفض تبوغ الفطر الممرض *C. cladosporioides*. إذ بلغ معدل عدد الأبواغ لكل واحد مل من معلق الفطر الممرض 22.73، 19.96 و 16.95 $\times 10^3$، على التوالي، مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت $40.117 \times 10^3 7$ ولمقارنة النتائج استعمل المبيد الكيميائي carbendazim في تثبيط الفطر الممرض في الوسط الزرعي PDA إذ بلغ معدل التثبيط في نمو الفطر *C. cladosporioides* 3.95، 68.26، 82.99 و 100%، على التوالي، للتراكيز 25 و 50 *C. cladospoirides* فعالية رواشح الفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. Koningii* بتركيز 20 و30 مل/لتر في خفض شدة الاصابة بالفطر الممرض *C. cladospoirides* المسبب لمرض التبقع الكلادوسبوري في نبات الباذنجان حيث بلغت شدة الإصابة 33.65، 30.12 و28.42%على التوالي للفطور *A. niger*، *T. harzianum* و *T. Koningii* مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت 66.86%. كما ازداد الوزن الرطب والجاف لنباتات الباذنجان المعامل بالفطور الاحيائية. وفي تجربة اختبار انزيم البيروكسيديز كمؤشر لدفاعات النبات بتأثير الفطور الأحيائية وجد أن النباتات المعاملة براشح الفطور الاحيائية ازداد فيها انزيم البيروكسيديز مقارنة بمعاملة المقارنة.

كلمات مفتاحية: *Cladosporium cladosporioides*، المكافحة الحيوية، نبات الباذنجان، Peroxidase، *Aspergillus carbonarius*، *Trichoderma harzianum*، *T. koningii*.

المقدمة

يعد نبات الباذنجان من محاصيل الخضر المهمة وهو من المحاصيل الواسعة الانتشار ويحتل أهمية كبيرة بين محاصيل الخضر الأخرى. وقد توسعت زراعة هذا المحصول في السنوات الاخيرة في العراق بشكل عام وفي محافظة البصرة على وجه الخصوص، حيث بلغت انتاجيته في عام 2013 في محافظة البصرة حوالي 2789.24 طن (التخطيط والمتابعة، 2013). تصاب نباتات الباذنجان بالعديد من الفطور خصوصا فطور المجموع الخضري مثل الفطر *Altrnaria solani* و *A. alternata*. وفي السنوات الاخيرة ونتيجة الجفاف وازدياد درجات الحراة فقد نشطت بعض الفطور المرضية الثانوية لتصبح فطوراً اساسية في اصابة النبات مثل أنواع الفطر *Cladosporium* spp.. ويعد الفطر *Cladosporium cladosporioides* من الفطور الممرضة للنبات والتي تسبب تبقع الأوراق، اضافة الى افراز السموم الفطرية مثل Cladosporin (Sreedevi *et al*., 2011).

استعملت عدة طرائق لمكافحة أمراض التبقعات في نبات الباذنجان ومن أهمها استعمال المبيدات الكيميائية، إلا أن المشكلات الناجمة عن استعمال المبيدات مثل التلوث البيئي والسمية العالية للانسان وحيواناته (Aly *et al*., 2007) اضافة إلى ظهور سلالات مقاومة لفعل المبيد جعل العلماء يتجهون إلى إيجاد بدائل عن المكافحة الكيميائية، ومن تلك البدائل استعمال المكافحة الأحيائية والتي من أهمها فطور *Trichoderma* spp. التي تمتلك عدة اليات كالتطفل والتضاد وجاهزية العناصر والتي أثبتت كفاءتها ضد العديد من المسببات المرضية (Harman, 2006). ولعدم وجود دراسات سابقة حول الفطر الممرض

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.3.192198
© 2018 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

C. cladosporioides كمسبب لمرض تبقع الأوراق على نبات الباذنجان في العراق لذا جاء هذا البحث الذي يهدف إلى: 1) دراسة وتشخيص الفطر *C. cladosporioides* المسبب لأمراض التبقعات في نبات الباذنجان؛ 2) اختبار كفاءة بعض الفطور الأحيائية ورواشحها في خفض شدة الاصابة بالفطر الممرض *C. cladosporioides*.

مواد البحث وطرائقه

عزل وتنمية الفطر الممرض *C. cladosporioides*

جمعت أوراق باذنجان ظهرت عليها بقع بنية صغيرة محاطة بهالة صفراء ثم غسلت جيدا بماء جاري لإزالة الأتربة ثم تركت لمدة قصيرة لتجف. قطعت هذه الأجزاء إلى قطع صغيرة بطول 0.5- 1.0 سم وطهرت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 3% من المستحضر التجاري لمدة عشر دقائق. بعد ذلك غسلت بالماء المقطر المعقم ثم جففت على ورق ترشيح نوع واتمان رقم 4. نقلت 3-4 قطع من الأوراق إلى طبق بتري قطر 9 سم يحوي الوسط الغذائي MEA (Malt Extract Agar) المعقم مضاف اليه المضاد الحيوي Chloromphenicol (250 مغ/لتر). حضنت الأطباق عند حرارة 25±2 °س لمدة سبعه أيام (Akhtar & Siddiqui, 2007). وقد شخص الفطر اعتماداً على الصفات التصنيفية التي نشرت سابقاً (Bensch *et al*., 2012).

اختبار القدرة الامراضية للفطر *C. cladosporioides*

استعملت في هذه التجربة شتلات باذنجان صنف برشلونة بعمر أربعة أسابيع زرعت البادرات في أصص بلاستيكية (ثلاثة بادرات لكل أصيص) تحتوي على مزيج من التربة والبتموس بنسبة 1:1 عقم مزيج التربة باستعمال الفورمالين التجاري وذلك بتحضير محلول مكون من 50:1 فورمالين:ماء. أستعمل المحلول بنسبة 3 لتر ماء/م^3 تربة (طواجن، 1979). لقحت النباتات بعد ثلاثة اسابيع من الزراعة بالمعلق البوغي لعزلات الفطر *C. cldosporioides* وكلا على حدة وبتركيز 10^5 بوغ/مل. رش النبات بواقع 30 مل معلق بوغي وباستعمال مرشة يدوية سعة 3 لتر. ضبط التركيز باستعمال شريحة Haemocytometer. غطيت النباتات بصندوق بلاستيكي وذلك لرفع نسبة الرطوبة خلال الأيام الثلاثة الأولى من الإلقاح ولضمان الإصابة. بعد ذلك تم رفع الصندوق البلاستيكي وتركت الأصص في داخل البيت البلاستيكي. حسبت شدة الإصابة بعد اسبوعين وفق مقاييس مكونة من خمس درجات، ونفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل عزلة. حسبت درجات الإصابة على الشكل التالي: 0= لا يوجد إصابة، 1= 10−30، 2= 40−60، 3= 70−90.

$$\text{شدة الإصابة} = 100x \frac{\text{مجموع (عدد الاوراق في كل درجة× قيمة الدرجة)}}{\text{العدد الكلي للأوراق × قيمة أعلى درجة في السلم}}$$

اختبار تراكيز من راشح الفطور الأحيائية المعقم في تثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض

حضر الوسط الغذائي السائل Broth-potato-sucrose المكون من مستخلص 200 غ بطاطا و 10غ سكر/لتر ماء مقطر ووزع في دوارق مخروطية سعة 250 مل وبمعدل 200 مل/دورق. عقم الوسط الغذائي بجهاز التعقيم البخاري عند حرارة 121 °س وضغط 15 رطل/بوصة لمدة 20 دقيقة. بردت الدوارق ولقح كل منها بقرص قطر 0.5 سم من الوسط الغذائي PDA المنمى عليه أحد الفطور *A. niger*، *T. harzianum* و *T. Koningii* بعمر خمسة أيام ثم حضنت الدوارق عند حرارة 25±2°س لمدة 14 يوماً مع مراعاة رج محتويات الدوارق كل 2−3 أيام. رشحت مزارع الفطور خلال ورق ترشيح نوع واتمان رقم 1، ثم رشح بعد ذلك معلق الأبواغ عبر مرشح دقيق (Mllipore 0.20µm). اضيف راشح كل نوع من أنواع الفطور الأحيائية إلى الوسط الغذائي PDA المعقم قبل التصلب وبتراكيز 10، 20 و 30% مع مراعاة تعديل نسبة الآجار، وبثلاثة مكررات. أما معاملة المقارنة فتضمنت إضافة الماء المقطر المعقم إلى الوسط بنسب الراشح نفسها. صبت الأوساط الغذائية الحاوية وغير الحاوية على الرواشح في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم ثم لقحت الأوساط بعد تصلبها بأقراص قطر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي المنمى عليه الفطر الممرض *C. cladospoirides* بعمر 10 أيام في مركز كل طبق، ثم حضنت الأطباق في الحاضنة عند حرارة 25±2 °س لمدة 12 يوماً. تم قياس معدل النمو الفطري بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز الطبق بعد وصول نمو الفطر في معاملة الشاهد الى حافة الطبق وحسبت نسبة التثبيط حسب المعادلة التالية:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر النمو في معاملة الشاهد} - \text{معدل قطر النمو في المعاملة}}{\text{معدل قطر النمو في الشاهد}} \times 100$$

تأثير رواشح الفطور الأحيائية في تبوغ الفطر الممرض *C. cladospoirides*

أضيفت رواشح الفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii* إلى الوسط الغذائي PDA وبتركيز 100% لكل فطر أحيائي مع وجود معاملة للشاهد بدون إضافة. بعد ذلك صبت الأوساط الغذائية المضاف وغير المضاف إليها الرواشح في أطباق بتري معقمة بقطر 8.5 سم. بعد تصلب الأوساط الغذائية لقحت بقرص قطرة 0.5 سم من الفطر *C. cladospoirides*. حضنت جميع الأطباق عند حرارة 25±2 °س لمدة 12 يوماً بعد ذلك أُخذ قرص بقطر 0.5 سم من الفطر

المنمى في وسط حاوي على الرواشح الفطرية ووضع في أنبوبة زجاجية تحتوي على 9 مل ماء مقطر معقم. رج الأنبوب جيداً لمدة خمس دقائق لفصل أبواغ الفطر ثم أخذ 1 مل من المعلق وأضيف إلى 9 مل ماء مقطر معقم. كررت العملية مرتين للحصول على تركيز 10^3 بوغ/مل. أضيف 1 مل من معلق الفطر إلى أطباق بتري معقمة ثم صب فوقه الوسط الغذائي Water Agar. حضنت جميع الأطباق عند حرارة 25±2 °س لمدة 72 ساعة ثم حسبت عدد المستعمرات الناتجة واستخرج عدد الابواغ في كل واحد مل من المعادلة التالية.

عدد الأبواغ /مل = عدد المستعمرات × التخفيف

تأثير تراكيز من المبيد كربيندازيم في النمو الشعاعي للفطر *C. cladospoirides*

حضر وسط غذائي PDA وعقم في جهاز التعقيم البخاري وبعد التعقيم ترك ليبرد حتى انخفضت حرارته إلى ما قبل التصلب. وزع في دوارق زجاجية حجم 250 مل وبمعدل 200 مل لكل دورق. حضر محلول اساس بتركيز 1000 جزء بالمليون من المبيد كربيندازيم. نقلت كمية معينة من محلول الأساس إلى الدوارق الحاوية على الوسط الزرعي للحصول على التراكيز 25، 50، 75 و100 جزء بالمليون من المبيد. رجت الدوارق المضاف إليها المبيد جيداً لغرض تجانس توزيع المبيد مع الوسط الغذائي، ثم صب الوسط الغذائي الذي يحتوي على المبيدات في أطباق بتري زجاجية معقمة بقطر 8.5 سم. لقحت الأطباق بأقراص قطرها 0.5 سم من عزلة الفطر *C. cladospoirides* والمنماة على وسط غذائي PDA المعقم وبعمر 12 يوماً، أما معاملة المقارنة فتضمنت تنمية عزلة الفطر في وسط زرعي خالي من المبيد. حضنت جميع الأطباق عند درجة حرارة 25±2 °س لمدة 12 يوماً، بعدها حسب معدل نمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز المستعمرة وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو كما في الفقرات السابقة.

تأثير رواشح الفطور الأحيائية في إصابة نبات البانجان بمرض تبقع الاوراق المتسبب عن الفطر *C. cladospoirides*

استعمل في هذه التجربة أصص بلاستيكية سعة 5 كغ تحتوي على مزيج من التربة والبتموس بنسبة 1:2. عقم مزيج التربة باستعمال الفورمالين التجاري وذلك بتحضير محلول مكون من 50:1 فورمالين:ماء. استعمل المحلول بنسبة 3 لتر ماء/$م^3$ تربة (طواجن، 1979). أضيفت الفطور *A. niger*، *T. koningii* و *T. harzianum* المحملة على بذور القمح وبواقع 1% وزن/ وزن لكل اصيص وكلا على حدة، ثم سقيت بالماء. بعد ثلاثة ايام نقلت شتلات الباذنجان صنف برشلونة وبواقع ثلاث نباتات لكل أصيص. بعد ثلاثة أيام، رشت النباتات براشح الفطور الأحيائية وبتراكيز 20 و 30 مل راشح/لتر كل على حدة. رشت معاملة الشاهد بالماء المقطر المعقم، وبعد يومين رشت جميع النباتات ومن ضمنها معاملة الشاهد بالمعلق البوغي للفطر *C. cladospoirides* وبتركيز 10^5 بوغ/مل. غطيت النباتات بصندوق بلاستيكي لرفع نسبة الرطوبة. بعد أربعة أسابيع حسبت شدة الإصابة حسب المقياس الوارد في الفقرات السابقة كما حسبت الأوزان الرطبة والجافة للمجموع الجذري لجميع المعاملات.

تقدير نشاط انزيم البيروكسديز في نبات الباذنجان

أخذت أوراق من نبات الباذنجان ووضعت في أكياس بولي إيثيلين معلمة كل حسب معاملته ووضعت في صندوق حاوٍ على الثلج ونقلت إلى المختبر ثم أخذ 150 مغ وزن رطب من أوراق نباتات الباذنجان ثم غسلت بالماء المقطر الخالي من الأيونات ثم أضيف اليه 2.5 مل من المحلول المنظم Potassium phosphate buffer بتركيز 0.05 مولر الذي يتكون من فوسفات البوتاسيوم ثنائية البوتاسيوم (K_2PO_4) وفوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين (K_2HPO_4) وبدالة هيدروجينية مقدارها 6. وضع المزيج في جهاز الطرد المركزي (12000 دورة/دقيقة) ولمدة 20 دقيقة ثم اضيف إليه 250 مايكروليتر لكل من صبغة الكواياكول Gauiacol بتركيز 0.5% وبيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.3% (حجم/حجم) و2.5 مل من المحلول المنظم.

تمت قراءة كمية الامتصاص مباشرة في جهاز المطياف الضوئي وبطول موجة 470 نانومتر (Kim *et al*., 1988)، وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة، وقدر النشاط الأنزيمي على أساس وحدة امتصاص انزيمية لكل غرام وزن رطب، حسب النشاط الانزيمي وفق المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية الأنزيمية} = \frac{\text{القراءة للجهاز}}{\text{وزن النموذج} \div \text{حجم الاستخلاص} \times \text{الحجم المأخوذ للقراءة}}$$

النتائج

عزل الفطر واختبار قدرته الامراضية

تم الحصول على ثلاث عزلات من الفطر *C. cladospoirides* المسبب لتبقع أوراق الباذنجان، عزلة من منطقة شط العرب، محافظة البصرة وأعطيت الرقم 1 وعزلة من البيوت البلاستيكية من منطقة أبي الخصيب و أعطيت الرقم 2 وعزلة من البيوت البلاستيكية التابعة إلى محطة أبحاث كلية الزراعة وأعطيت الرقم 3. عند اختبار القدرة الامراضية للعزلات على شتلات الباذنجان بعد 30 يوماً من الإصابة، وجدت فروقات معنوية بين العزلات في شدة الإصابة أذ بلغت 68.7% للعزلة 1 مقارنة مع 55.33% للعزلة 2 و64.5 للعزلة رقم 3 (جدول 1). ظهرت الاعراض في البداية

على الاوراق بهيئه بقع صفراء صغيرة الحجم دائرية الشكل ثم تحولت الى لون بني محاط بهالة صفراء، وبتقدم الاصابة أخذت البقع بالاتساع قليلاً. وفي ضوء تلك النتائج رشحت العزلة 1 لإجراء التجارب اللاحقة (Sreedevi *et al.*, 2011).

جدول 1. النسبة المئوية لشدة الإصابة لثلاث عزلات من الفطر *C. cladospoirides* على نباتات الباذنجان بعد 30 يوماً من الاصابة.
Table 1. Disease severity (%) for three isolates of *C. cladospoiroides* on eggplants 30 days after infection.

عزلات الفطر *C. cladospoirides* *C. cladospoirides isolates*	% لشدة الاصابة Disease severity (%)
1	68.70
2	55.33
3	64.50
$LSD_{0.05}$	3.78

اختبار تراكيز من رواشح الفطور الأحيائية المعقم في تثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض

أشارت النتائج (جدول 2) إلى وجود اختلافات احصائية معنوية في تاثير رواشح الفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii* في تثبيط الفطر الممرض *C. cladospoirides*، إذ بلغ معدل النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر الممرض 36.59 و 29.61 و40.69%،على التوالي، للفطور *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii*، وكان راشح الفطر *T. koningii* الأكثر فاعلية من بين الفطور الأحيائية الأخرى في تثبيط الفطر الممرض.

كما وجد من الدراسة أن تأثير رواشح الفطور الأحيائية في نمو الفطر الممرض يزداد بزيادة التركيز المستعمل، إذ بلغت النسبة المئوية لمعدل تثبيط نمو الفطر الممرض 18.8، 48.51 و 47.7%،على التوالي، للتراكيز 10، 20، 30 مل/ لتر تحت تأثير الفطر *T. koningii*. كما بينت النتائج أيضاً وجود تأثير معنوي للتداخل بين راشح الفطور الأحيائية والتركيز المستخدم، إذ أثر راشح الفطرين *A. niger* و *T. Koningii* في نمو الفطر الممرض عند التركيز 30 مل/لتر بشكل أكبر من بقية التراكيز وهذا ما يؤكد أن لعامل المقاومة الأحيائية القدرة على إنتاج مضادات حيوية وإنزيمات لها القدرة على تثبيط نمو الفطور الممرضة للنبات، إذ وجد أن بعض أنواع الفطر *Trichoderma* spp. له القدرة على إنتاج بعض المضادات الحيوية مثل Alamethacine، Isonitriels، Alkylpyrones، Diketopiperazine، streroid و Acetaldehyde التي تنتجها هذه الأحياء المضادة. كما وجد ان للفطر *T. harzianum* القابلية على إفراز إنزيم السيليوليز و إفراز إنزيمات أخرى منها إنزيم *B*-1,3 glucanase والذي يعمل على تحطيم الكلوكان الموجود في جدران الغزل الفطري للفطر *C. cladospoirides* حيث يعدّ الكلوكان المكون الرئيس للسكريات المتعددة والتي تدخل في تركيب جدار الخلية الفطرية ولجميع الفطور عدا مجموعة الفطريات البيضية Oomycetes الذي يتكون من السيليلوز حيث تعد هذه الإنزيمات وإنزيم الكايتيز من الإنزيمات التي تحلل جدران خلايا الفطور المرضية وهذا ما يساعد في زيادة القدرة التضادية للفطر *T. harzianum* (El-Katanany *et al*., 2000).

جدول 2. تأثير رواشح الفطور الأحيائيه المعقمة في نمو الفطر *C. cladospoirides* بعد 12 يوماً من التحضين عند حرارة 25±2 °س.
Table 2. Effect of bio-control fungi filtrates on the growth of the pathogenic fungus *C. cladospoirides* 12 days after incubation at 25±2 °C.

% لتثبيط نمو الفطر الممرض Fungal pathogen inhibition rate (%)				
متوسط تأثير راشح الفطور Average effect of fungal filtrates	تركيزالراشح (مل/ لتر) Filtrate concentration (ml/L)			الفطور الاحيائية Bio-control fungi
	30	20	10	
36.59	46.74	33.86	29.17	*A. niger*
29.61	44.86	26.96	17.01	*T. harzianum*
40.69	54.77	48.51	18.80	*T. koninkii*
$LSD_{0.01}$	للتراكيز = 2.96، للتداخل = 2.47			
$LSD_{0.01}$ for concentrations = 2.96, for interference = 2.47				

تأثير رواشح الفطور الاحيائية في تبوغ الفطر الممرض *C. cladospoirides*

أظهرت النتائج (جدول 3) وجود فروقات معنوية بين تراكيز رواشح الفطور الأحيائية المستعملة في التجربة في تبوغ الفطر *C. cladospoirides* قياسا بمعاملة الشاهد حيث ان جميع التراكيز المستعملة قد أثرت في تبوغ الفطر الممرض اذ كان معدل عدد الابواغ لكل واحد مل من معلق الفطر 22.73، 19.96 و 17.62 × 10^3 لكل من التراكيز 10، 20 و 30% مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت 40.11×10^3. إن اختلاف تأثير الرواشح الفطرية في تبوغ الفطر قد يعود إلى الاختلاف في طريقة التأثير السام لكل راشح اذ أن الرواشح المستعملة تعود لمجاميع كيميائية مختلفة. وبينت النتائج أيضاً أن جميع رواشح الفطور الأحيائية أثرت في تبوغ الفطر الممرض. وقد يعود سبب انخفاض معدل عدد الوحدات التكاثرية عند المعاملة بالفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii* إلى تأثير المضادات الحيوية التي تفرزها هذه الفطور والتي لها تأثير في الخيوط الفطرية التي تنتج مولدات الأبواغ الفطرية. أثبتت دراسات سابقة أن الفطر *Trichoderma* spp. ينتج المضاد الحيوي Gliotoxin الذي يعمل على تثبيط أبواغ الفطور الممرضة (شعبان وملاح، 1993).

جدول 3. تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطور الأحيائية في تبوغ الفطر الممرض *C. cladospoirides*.

Table 3. Effect of different filtrate concentrations of bio-control fungi on sporulation of the pathogenic fungus *C. cladospoirides*.

% تثبيط التبوغ مقارنة بالشاهد % sporulation inhibition compared to the control			معدل أبواغ الفطر/ 1 مل (× 10^3) Average number of spores/ml (x 10^3)			الفطريات الاحيائية Bio-control fungi
كثافة أبواغ الفطر *C. cladospoirides* / *C. cladospoirides* sporulation intensity — تركيزالراشح (مل/لتر) Filtrate concentration (ml/L)						
30	20	10	30	20	10	
64.5	46.7	20.1	12.86	23.90	31.43	*A. niger*
58.6	57.1	35.0	14.95	19.21	25.72	*T. harzianum*
74.5	49.9	476	9.23	22.88	18.75	*T. koninkii*
للتراكيز = 5.73 ، للتداخل = 1.79، للراشح = 3.86 LSD for concentrations =5.73, interference= 1.79, filtrate= 3.86						$LSD_{0.01}$

تأثير تراكيز مختلفة من المبيد كربيندازيم في النمو الشعاعي للفطر *C. cladospoirides*

هدفت هذه التجربة الى مقارنة تأثير رواشح الفطور الأحيائية *A. niger* و *T. harzianum* و*T. koningii* مع المبيد الفطري كربيندازيم والذي اثبتت نتائجه اختلافات معنوية في النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *C. cladospoirides* باختلاف التراكيز المستعملة، اذ بلغ معدل التثبيط في نمو الفطر 33.95 و 68.26 و 82.99 و 100% على التوالي للتراكيز 25 و 50 و 75 و100 جزء في المليون. كما وجد من الدراسة أن تأثير المبيد الفطري كربيندازيم في نمو الفطر الممرض إزداد بزيادة التركيز المستعمل وكان أكثر التراكيز تأثيراً في نمو الفطر الممرض هو التركيز 100ppm حيث بلغت نسبة التثبيط 100%. يلاحظ ان تأثير المبيد الفطري أعلى من تأثير الراشح الفطري ولكن استعمال الراشح الفطري للفطور الأحيائية *A.niger*، *T. harzianum* و *T. koningii* والتي أثرت وبشكل معنوي في الفطر الممرض *C. cladospoirides* افضل من استخدام المبيد الفطري كربيندازيم لعدة أسباب منها، أن للمبيدات الكيميائية العديد من المساوئ والآثار الضارة في البيئة والانسان (Aly وآخرون،2007) فضلاً عن تأثيراتها غير المستهدفة اضافة إلى أن استخدام الكائنات الحية الدقيقة في المكافحة الأحيائية ومن أهمها أنواع الفطر *Trichoderma* spp. التي تمتلك عدة اليات كالتطفل والتضاد وجاهزية العناصر والتي أثبتت كفاءتها ضد العديد من المسببات المرضية (Harman, 2006).

جدول 4. تأثير تراكيز من المبيد الفطري في نمو الفطر الممرض *C. cladospoirides*

Table 4. Effect of different concentrations of the fungicide carbendazim on the pathogen *C. cladospoirides*.

% لتثبيط الفطر Fungus inhibition (%) Inhibition	تركيز المبيد (جزئ في المليون) Fungicide concentration (ppm)
33.95	25
68.26	50
82.99	75
100.00	100
2.33	$LSD_{0.01}$

تأثير رواشح الفطوري الأحيائية في اصابة نبات البانجان بمرض تبقع الأوراق المتسبب عن الفطر *C. cladospoirides* في الأصص

اثبتت نتائج هذه التجربة فعالية رواشح الفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. Koningii* بتركيز 20 و30 مل/لتر في خفض شدة الاصابة الاصابة بالفطر الممرض *C. cladospoirides* المسبب لمرض التبقع الكلادوسبوري في نبات الباذنجان حيث بلغ معدل شدة الاصابة 33.65، 30.12 و28.42% عند استخدام راشح الفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii*مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت 66.86%. كما ازداد الوزن الجاف لنباتات الباذنجان المعامل بالفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. koningii* حيث بلغ الوزن الرطب للجذور 27.01، 34.45 و 24.81، على التوالي، كما بلغ الوزن الجاف 3.31، 5.90 و4.22، على التوالي، مقارنة بالوزن الرطب والجاف لمعاملة المقارنة التي بلغت 18.73 و2.97. ويعود السبب في ذلك أن رواشح الفطور الأحيائية لها قدرة تثبيطية عالية للفطور الممرضة للنبات مما تجعل النبات أكثر حيوية فقد أكدت مطرود (2015) أن راشح الفطر *T. koningii* يحتوي على العديد من المركبات الكيميائية التي لها دور في حماية النبات مثل المركب 1,3Propanediol, 2-(hydroxymethyl)-2-nitro كما تعمل الفطوريات الأحيائية على جاهزية العناصر (Harman، 2006). يعزى التأثير الأيجابي لعزلة الفطر *A. niger* في نمو البادرات إلى العديد من الآليات والتي تعتبر من أهمها: زيادة المساحة السطحية للجذور من خلال تحسين الفروع الجذرية وتطور الشعيرات الجذرية وكذلك تحفيز عمليات الأيض التي تكون مؤثرة بشكل مباشر في ذوبانية العديد من العناصر الغذائية وجعلها جاهزة للامتصاص من قبل النبات زيادة على ذلك افراز بعض الهرمونات النباتية التي من شأنها تحفيز نمو النبات، حيث تتفق هذه النتائج مع ماذكره (Alan، 2007). يتبيّن أيضاً التأثير الأيجابي للفطر *Trichoderma* الذي ذكر تأثيره المحفز للنمو من قبل العديد من الباحثين، لذلك يتبيّن أنه من الممكن تحفيز نمو النبات وتشجيعه من قبل مختلف العزلات

الفطرية وأيضاً امكانية بعض العزلات على زيادة نمو النبات، حيث أن نوعية النمو المحفز يمكن أن تشابه تلك الناتجة من إضافة الفطر *Trichoderma* spp. التي وجدت أنها تحسّن من نمو مختلف النباتات (Masunaka *et al*., 2011 ؛Hajieghrari, 2010).

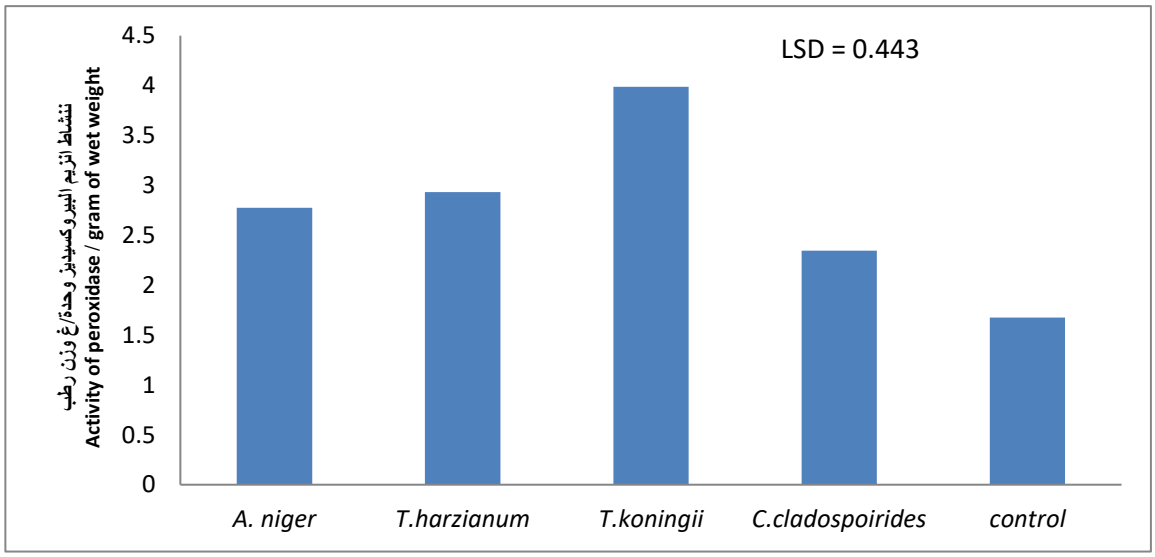
جدول 5. تاثير رواشح الفطور الأحيائية في اصابة نبات الباذنجان بمرض تبقع الاوراق المتسبب عن الفطر *C.cladospoirides*

Table 5. Effect of bio-control fungi filtrates on eggplant infection with leaf spot caused by the pathogenic fungus *C. cladospoirides.*

متوسط وزن الجذور (غرام) Average roots weight (g)		شدة الاصابة (%) Disease severity (%)		الفطور الأحيائية Bio-control fungi
جاف Dry	رطب Fresh	30	20	
3.31	27.01	31.61	35.69	*A. niger*
5.90	34.45	28.08	32.16	*T. harzianum*
4.22	24.81	24.28	32.56	*T. koningii*
2.97	18.73	66.86		الشاهد Control
1.15	3.55	0.78	1.22	$LSD_{0.01}$

تقدير نشاط انزيم البيروكسديز في نبات الباذنجان

أظهرت النتائج (شكل 1) أن جميع الفطور الأحيائية كان لها تأثير معنوي في زيادة نشاط إنزيم البيروكسديز في نبات الباذنجان حيث بلغت 2.776، 2.932، 3.987 و 2.345 وحدة/غ وزن رطب للفطور *A. niger*، *T. harzianum*، *T. koningii* و *C. cladospoirides* مقارنة بمعاملة المقارنة حيث بلغ النشاط الأنزيمي 1.67 5 وحدة/غ وزن رطب وكان أكثر الفطور تأثيراً بزيادة الفعالية الانزيمية هو الفطر *T. koningii*. فقد أشارت دراسات عدة الى قدرة الفطر *Trichoderma* spp. باستحثاث المقاومة ضد العديد من الفطور الممرضة نتيجة زيادة نشاط إنزيم البيروكسديز بالنبات، إذ لاحظ Sreedevi وآخرون (2011) ان زيادة انزيم البيروكسديز في نبات الفول السوداني (groundnut) المعامل بالفطر *T. harzianum* استحث المقاومة ضد الفطر *M. phaseolina*. كما أكد طه وابراهيم (2010) إلى أن نبات الفاصوليا المعامل بالفطر *T. harzianum* أظهر كفاءة عالية في مقاومة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* عن طرق استحثاث المقاومة نتيجة زيادة انزيمات البيروكسديز والبولي فينول اوكسيديز. كما ذكر أن دور انزيم البيروكسيديز في استحثاث المقاومة يكون من خلال دوره في تصنيع الفايتوالكسينات داخل النبات عن طريق اكسدته للفينولات وتحويلها الى فينولات سامة (فايتوالكسينات) للمسببات المرضية، او انه يعمل على المشاركة في تخليق اللغنين والسوبرين التي تعد عوارض فيزيائية ضد دخول المسببات المرضية في النبات (Barcelo *et al*., 1996).



شكل 1. نشاط انزيم البيروكسيديز في نبات الباذنجان المعامل بالفطور الأحيائية *A. niger*، *T. harzianum* و *T. Koningii*.

Figure 1. Peroxidase enzyme activity in eggplants treated with bio-control fungi *A. niger*, *T. Harzianum* and *T. koningii*.

Abstract

Matrood, Abdulnabi A.A. 2018. Biocontrol of the cladosporic spot in the eggplant plant caused by the fungus *Cladosporium cladosporioides*. Arab Journal of Plant Protection, 36(3): 192-198.

The aim of this study was to control eggplant Cladosporium disease caused by the fungus *Cladosporium cladosporioides* using the biological control fungi *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum* and *T. koningii*. The effect of these agents was tested in vitro. Three isolates of *C. cladosporioides* were obtained from various eggplant-growing regions in Basrah governorate. When testing the pathogenic capacity of the three isolates, isolate 1 from Shatt al-Arab area was found the most severe, with 68.7% severity of infection, and accordingly this isolate was used for further testing. Bio-fungicide filtrate was tested for its ability to reduce the growth of pathogenic fungi in PDA medium. All filtrates concentrations tested affected the fungal growth of pathogenic fungi with a rate of inhibition between 29.61 and 40.69%. In addition, spores concentrations of the bio-control agents (10, 20 and 30 ml filtrate/L) reduced the sporulation of the pathogenic fungus *C. cladosporioides*. The average number of spores per one ml of pathogenic fungus reached 22.73, 19.96 and 16.95 × 10^3, respectively, compared with 40.11×10^3 for the control treatment. For comparison purposes, carbendazim fungicide was also tested to inhibit the pathogenic fungus in PDA medium, and the rate of inhibition of *C. cladosporioides* obtained was 33.95, 68.26, 82.99 and 100%, respectively, for concentrations 25, 50, 75 and 100 ppm. Filtrates of *A. niger*, *T. harzianum* and *T. koningii* (20 and 30 ml filtrate/L) were found to reduce the severity of *C. cladosporioides* infection on eggplant plant by 33.65, 30.12 and 28.42%, for the three fungi, respectively, compared to 66.86% for the control treatment. The fresh and dry weight of eggplants treated with bio-fungicides was increased. Eggplants treated with bio-fungicides showed an increase in peroxidase activity compared with the control treatment.

Keywords: *Cladosporium cladosporioides*, biological control, eggplant, peroxidase, *Aspergillus carbonarius*, *Trichoderma harzianum, T. koningii*

Corresponding author: Abdulnabi A.A. Matrood, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq, email: abdu1988875@yahoo.com

References

Bensch, K., U. Braun, J.Z. Groenewald and P.W. Crous. 2012. The genus Cladosporium. Studies in Mycology, 72:1–401. https://doi.org/10.3114/sim0003

El-Katanany, M.H., W. Somitsch, K.H. Robra, M.S. El-Katatny and G.M. Gübitz. 2000. Production of chitinase and *B*-1,3-glucanase by *Trichoderma harizanum* for control of the phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. Food Technology and Biotechnology, 38: 173-180.

Hajieghrari, B. 2010. Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on Mize seed germination and seedling vigor. African Journal of Biotechnology, 9: 4342-4347. https://doi.org/10.5897/AJB10.172

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology, 96: 190. https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190

Kim, S.H., M.E. Terry, P. Hoops, M. Dauwalder and S.J. Roux. 1988. Production and characterization of monoclonal antibodies to wall-localized peroxidases from corn seedlings. Plant Physiology, 88: 1446–1453. https://doi.org/10.1104/pp.88.4.1446

Masunaka, A., M. Hyakumachi and S. Takenaka. 2011. Plant growth-promoting fungus, *Trichoderma koningi* suppresses isoflavonoid phytoalexin vestitol production for colonization on/in the roots of *Lotus japonicus*. Microbes and Environments, 26: 128-134. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME10176

Sreedevi, B., M. Charitha Devi and D.V.R. Saigopal. 2011. Induction of defense enzymes in *Trichoderma harzianum* treated groundnut plants against *Macrophomina phaseolina*. Journal of Biological Control, 1: 33–39. https://doi.org/10.18311/jbc/2011/3838

المراجع

التخطيط والمتابعة. 2013. مديرية زراعة البصرة. محافظة البصرة. العراق. 16 صفحة.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح. 1993. المبيدات. مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. 520 صفحة.

طه، خالد حسين، وبسام يحيى ابراهيم. 2010. طرز حيوية جديدة من *Trichoderma spp* كفوءة في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* في نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*. مجلة زراعة الرافدين، 38: 101-111.

طواجن، احمد محمد موسى. 1979. بيئة البيوت الزجاجية. مطبعة جامعة البصرة. الصفحات 571-573.

مطرود، عبد النبي عبدالامير. 2015. التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* في نبات زهرة الشمس. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة الكوفة، جمهورية العراق. 135 صفحة.

Akhtar, M.Y and Z.A. Siddiqui. 2007. Effects of *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium* sp. on the growth and root-rot disease complex of chickpea. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 40: 37–43. https://doi.org/10.1080/03235400500320133

Alan, E.R. 2007 Making Microorganisms mobilize Soil Phosphorus. Pages 85-90. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization (Developments in Plant and Soil Sciences), E. Velazquez and C. Rodriguez-Barrueco (eds.). Salamanca, Spain, 16-19, July, 2002. Springer.

Aly, A.A., M.A. Abdel-Sattar, M.R. Omar and K.A. Abd-Elsalam. 2007. Differential antagonism of *Trichoderma* sp. against *Macrophomina phaseolina*. Journal of Plant Protection Research, 47: 122-129

Barcelo, A.R., J.M. Zapata and A.A. Calderon. 1996. A basic peroxidase isoenzyme marker of resistance against *Plasmopara viticola in* Grapevines, is induced by an Elicitor from *Trichoderma viride* in susceptible grapevines. Phytopathology, 144: 309-313. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb01534.x

Received: October 25, 2017; Accepted: September 24, 2018

تاريخ الاستلام: 2017/10/25؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2018/9/24