دراسة تأثير
بعض العوامل البيئية في عدد من الجوانب الفسلجية
للفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn
في المختبر

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية العلوم - جامعة بابل
وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم
في علوم الحياة / بيئة وتلوث

من قبل
لبنى عبد المطلب الشلاه

كانون الأول- ٢٠٠٥ ذي الحجه ١٤٢٦

Study The Effect of Some Environmental Factors on Certain Physiological Aspect of *Rhizoctonia solani* Kuhn Under Laboratory Condition

A Thesis
Submitted to the Council of the College of Science
University of Babylon
In Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Biology

By

Lubna Abdul Muttalib Al-Shalah

December-٢٠٠٥ **Thu-Al hujh-١٤٢٦**

بسم الله الرحمن الرحيم

اللَّهُ نُورُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ ۚ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَوٰةٍ
فِيهَا مِصْبَاحٌ ۖ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ ۖ الزُّجَاجَةُ
كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِن شَجَرَةٍ مُّبَارَكَةٍ
زَيْتُونَةٍ لَّا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ
تَمْسَسْهُ نَارٌ ۚ نُّورٌ عَلَىٰ نُورٍ ۗ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَن يَشَاءُ ۚ
وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ ۗ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

صدق الله العظيم

سورة النور

الآية (٣٥)

الإهداء

إلى فردوسي وملاكي ... إلى التي زرعت
في قلبي الآمال وسقتني من كأسها الحنان ...
إلى القلب الذي يشع طمأنينة ...
إلى ملاذ غروبي وابتسامة إشراقتي ...
والدتي العزيزة
ينبوع الحب والحنان الذي وفقني ربي ببركة دعائه
...
والدي العزيز
إلى مقبض سيفي ومصدر إلهامي وسوري المنيع
ومهد اطمئناني وربان طريقي نحو المستقبل ...
زوجي العزيز
إلى ربيع أمانـّيي وآمالي أخوتي وأخواتي

إلى كل من علمني حرفاً وأضاء لـي الدرب نـوراً
أستاذي الفاضل

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

شكر وتقدير

الحمد لله الذي ازهر القلوب بدعائه، وأينع براعم الإيمان بندائه، وأوثق ثمار العقيدة بمناجاته، وهدانا بما أنزل من صحفهِ ورسولهِ، فدعانا في محكم كتابه لدعائه، وجعله مفتاح الباب بينه وبين عبيده وإمائه، والصلاة والسلام على أشرف من دعاه من خلائقه وبريته أبي القاسم محمد صلى الله عليه وآله ومدينة علمه وحكمته، وعيبة كلماته، وعلى أهل بيت نبيه، كلماته وأبوابه، وحملة فرقانه، أهل ولاء الله وولايته.

أما بعد ...

فيسرني ان أتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من ساهم في الإعانة والمساعدة في إنجاز هذا البحث وعلى رأسهم مِلاك كلية العلوم في جامعة بابل لاسيما منتسبوا قسم علوم الحياة وطلبة الدراسات العليا الذين حرصوا بهدى من الله سبحانه وتعالى في تشجيعهم المعنوي.

وأخص منهم بالذكر أستاذيَّ الفاضلين، الأب الدكتور جواد كاظم الجنابي والدكتور هادي ياسر عبود لما بذلوه من مساعدة وتوجيه في إتمام هذه الدراسة. وأقدم خالص شكري إلى الدكتورة رباب عمران لما أغدقتني به من المعلومات القيمة والتوجيهات الرصينة خلال مسيرة بحثي الطويلة. وأتقدم بفائق شكري وامتناني للدكتور هادي مزعل في كلية علوم البنات لمساعدته لي في التحليل الإحصائي للنتائج.

إلى الثناء وكل الثناء إلى قسم الكيمياء وأخص بالذكر طلبة الدراسات العليا والمكتبة المركزية في جامعة بابل للتسهيلات التي قدموها في اتمام هذه الدراسة. كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى مركز الفيحاء لمساعدته في طباعة الإطروحة ولا أنسى تقديم شكري للآنسة سهى طه.

وشكري وامتناني إلى أخواتي (زينة وأميرة) في مختبر الفطريات المتقدم كما أتقدم بشكري وتقديري إلى الأخوين (مشتاق وجلال) وتوأم روحي أختي الوحيدة والعزيزة (هند) لما أبدوه من تحفيز وتشجيع خلال فترة الدراسة.

الخلاصة

أظهرت نتائج الدراسة معرفة تأثير العوامل البيئية في نمو الفطر *Rhizoctonia solani* إن أن أفضل درجة حرارة لنمو الفطر كانت ٢٥ مْ وأدى ارتفاع أو انخفاض درجة الحرارة عن هذه الدرجة إلى انخفاض معدلات النمو الفطري. كما أظهرت النتائج إن أفضل رقم هيدروجيني لنمو الفطر *R. solani* هو (٦) على وسط البطاطا السكروز أكار (PSA) الذي كان الأفضل من بين الأوساط المستعملة للنمو تلاه وسط خلاصة الشعير أكار Maltextract agar، ثم وسط سابرويد Sabowroud agar .

كما شملت التجربة دراسة تأثير المكافحة الكيمياوية للفطر *R. solani* باستعمال ثلاثة مبيدات فطرية هي (تشجازول ورايزولكس وبنليت)، اذ تميز مبيد الرايزولكس (٠.٠٦) غم/لتر بقدرته العالية على تثبيط النمو الفطري (١٠٠٪) تلاه مبيد البنليت (٠.١) غم/لتر إذ كانت نسبة التثبيط (١٠٠٪) في حين إن مبيد التشجازول وصل إلى تثبيط (١٠٠٪) بتركيز (٤.٥٥) مل/لتر ذا الفعالية الجهازية إذ لم يمتلك الكفاءة العالية في تثبيط النمو الفطري وقد انعكس ذلك على الوزن الجاف للفطر للمبيدات الثلاثة. إذ وصل الوزن الجاف للفطر بوجود مبيد الرايزولكس ٠.٠١ ملغم في حين كان بوجود مبيد البلينت والتشجازول (٠.٠٥ ,٠.٠١) ملغم على التوالي.

وتم أيضا دراسة قابلية الفطر على إنتاج أنزيم excoglucanase FPase اذ أشارت النتائج إلى إن الفطر استطاع إنتاج الأنزيم بعد مدة حضن ٣ أيام.

أما نتائج دراسة الظروف المثلى لإنتاج الأنزيم فقد كانت درجة الحرارة ٣٠ م والرقم الهيدروجيني (٥)، مع التهوية والمزج بسرعة ١٢٠ دورة في الدقيقة هي المثلى للحصول على أعلى إنتاج للأنزيم.

وأظهر التداخل بين العوامل الفيزياوية وتركيز المبيد الكيمياوي تشجازول (٠.٢٦ و٠.٥٣) مل/لتر إن درجة حرارة ٢٥ م والرقم الهيدروجيني ٦ واستعمال تركيز (٠.٠٣٣, ٠.٠٦٦) مل/لتر لمبيد التشجازول انخفاض الإنتاج إلى النصف (٠.٠٠٤٢،٠.٠٠٣٦) وحدة/مل مقارنة بمعاملة السيطرة (٠.٠٠٩) وحدة/مل. إما تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد التشجازول فقد أوضحت النتائج إن إنتاج الأنزيم قد انخفض إلى الثلث (٠.٠٠١٥،٠.٠٠٠٦) وحدة/مل باستعمال الرقم الهيدروجيني (٧, ٨) بتركيز ٠.٠٦٦ للمبيد كما انخفض إنتاج الأنزيم بنسبة ٣٠% (٠.٠١٨) وحدة/مل مع التهوية ومبيد التشجازول بتركيز ٠.٠٦٦مقارنة بمعاملة السيطرة (٠.٠٣) وحدة/مل.

Abstract

. The results of this experiments showed that the optimum temperature for fungal growth was ٢٥ ˚C, since the averages of growth were significantly reduced at temperature below and higher this degree, While the optimum value of pH for fungal growth was ٦. The composition of the growth medium also had a significant effect on fungal growth since PSA was markedly higher than that in MEA and SA media.

The effect of three fungicides (Tachigazol, Rizolex and Benlatel) on growth of *R. solani* was examined. Rizolex (٠.٠٦) gm/l was characterized by higher efficiency (١٠٠٪)to inhibit fungal growth compared with that on Benomyl and Tachigazol which approach to the similar effect at constriction (٠.١) gm/l and (٤.٥٥) ml/l respectively .In addition to that, the dry weight of Rizolex treated fungus was substantially lower than that in Benomyl and Tachigazol treated fungi respectively.

The production of excoglucanase FPase enzyme by *R. solani* was considerably affected by variation in temperature, pH, aeration and agitation. excoglucanase FPase production in buffered PS contain cellulose medium, reached a maximum after ٣ days on incubation at ٣٠ ˚C, pH ٥ and ١٢٠ rpm.

Moreover, the interaction between physical and chemical factors with enzyme production was also investigated. The results showed that the productivity of excoglucanase FPase was reduced to the about ٥٠٪ at conc. ٠.٢٦,٠.٥٣ ml /l of Tachigazol and ٢٥ ˚C and pH ٦ (٠.٠٠٤٢,٠.٠٠٣٦) *u*/ml compared with treatment free of fungicide (٠.٠٠٩) *u*/ml, while the interaction of this fungicide ٠.٥٣ ml/l conc. at pH ٧ , ٨ reduced the excoglucanase FPase production to the third (٠.٠٠١٥, ٠.٠٠٠٦) *u*/ml. Moreover, productivity of excoglucanase FPase was reduced to about ٣٠٪ (٠.٠١٨)*u*/ml in medium culture supplemented with Tachigazol in addition to the agitation and aeration compared with that in untreated samples (٠.٠٣) *u*/ml.

بسم الله الرحمن الرحيم

توصية الأستاذين المشرفين

نشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (**دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في عدد من الجوانب الفسلجية للفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn في المختبر**) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بابل، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة (بيئة وتلوث).

التوقيع:
المشرف: د. جواد كاظم الجنابي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

التوقيع
المشرف: د. هادي ياسر عبود
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية الزراعة/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى توصية الأستاذين المشرفين أعلاه، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:
الاسم: د. علي شعلان الأعرجي
المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

بسم الله الرحمن الرحيم

قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، بأننا اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبة لبنى عبد المطلب في محتوياتها، وفيما له علاقة بها، ووجدنا أنها جديرة لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة– بيئة وتلوث.

رئيس اللجنة

التوقيع:
الاسم: د. سامي عبد الرضا
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة الكوفة
التاريخ: / /٢٠٠٦

عضو اللجنة

التوقيع:
الاسم: د. ضياء سالم الوائلي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية الزراعه/ جامعة البصرة
التاريخ: / /٢٠٠٦

عضو اللجنة

التوقيع:
الاسم: د. ميسون مهدي الطائي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:
المشرف: د. جواد كاظم الجنابي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع
المشرف: د. هادي ياسر عبود
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية الزراعة/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

مصادقة عمادة كلية العلوم

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة اعلاه.

التوقيع:
الاسم: أ. د. عوده مزعل ياسر
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: / /٢٠٠٦

المحتويات

التسلسل	اسم الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة العربية	I
	قائمة المحتويات	II
	قائمة الأشكال	VIII
	قائمة الجداول	IX
الفصل الأول: المقدمة		
	المقدمة	١
الفصل الثاني: استعراض المراجع		
٢-١	الأهمية الاقتصادية لفطر *Rhizoctonia solani*	٣
٢-٢	المدى العائلي لفطر *R. solani*	٥
٢-٣	العوامل البيئية المؤثرة على نمو فطر *Rhizoctonia solani*	٦
٢-٣-١	المدى الحراري لفطر *R. solani*	٦
٢-٣-٢	نوع الوسط الزرعي وتأثيره على نمو فطر *R. solani*	٦
٢-٣-٣	الرقم الهيدروجيني لفطر *R. solani* وتأثيره على النمو	٧
٢-٤	آلية الامراضية	٨
٢-٤-١	إنتاج الذيفانات	٩
٢-٤-٢	المواد الكابحة	٩
٢-٤-٣	إنتاج الإنزيمات	٩
٢-٥	السليلوز	١٠
٢-٦	تسمية الإنزيم	١٢
٢-٧	آلية عمل الإنزيمات المحللة للسليلوز	١٢
٢-٨	العوامل التي تؤثر في انتاج الانزيمات المحللة للسليلوز	١٤
٢-٨-١	مكونات الوسط الزرعي	١٤
٢-٨-٢	مدة الحضن وأطوار نمو الكائن المجهري	١٥
٢-٨-٣	الرقم الهيدروجيني	١٦
٢-٨-٤	درجة الحرارة	١٦
٢-٨-٥	التهوية	١٧
٢-٩	السيطرة الكيمياوية	١٧
٢-١٠	آلية تأثير المبيدات	٢٠
٢-١١	تأثير بعض العوامل البيئية على فعالية المبيد	٢١
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		
٣-١	المواد الكيمياوية	٢٣

التسلسل	اسم الموضوع	رقم الصفحة
٢-٣	المبيدات الكيمياوية	٢٤
٣-٣	الأوساط الزرعية	٢٤
١-٣-٣	PSA Potato Secrose Agar	٢٤
٢-٣-٣	وسط Potato Secrose PS السائل	٢٤
٣-٣-٣	وسط malt extract agar	٢٥
٤-٣-٣	وسط Sabowroud agar	٢٥
٥-٣-٣	وسط إنتاج الإنزيم	٢٥
٤-٣	المحاليل	٢٥
١-٤-٣	محلول اليوريا	٢٥
٢-٤-٣	المحلول المنظم	٢٦
٣-٤-٣	محاليل Somogyi_Nelson	٢٦
٤-٤-٣	محلول النحاس القاعدي	٢٧
٥-٤-٣	كاشف الفولن – سيتاكاليتو	٢٧
٥-٣	طرائق العمل	٢٧
١-٥-٣	مصدر اللقاح الفطري	٢٧
٢-٥-٣	نمو وحفظ العزلة الفطرية *Rhizoctonia solani*	٢٧
٣-٥-٣	تشخيص الفطر	٢٨
٤-٥-٣	اختبار القدرة المرضية	٢٨
٥-٥-٣	دراسة تأثير بعض العوامل البيئية على نمو الفطر *R solani*	٢٨
١-٥-٥-٣	تأثير درجة الحرارة في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*	٢٨
٢-٥-٥-٣	تأثير الاوساط الزرعية في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*	٢٩
٣-٥-٥-٣	تأثير الرقم الهيدروجيني في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*	٢٩
٦-٥-٣	تأثير بعض المبيدات الفطرية في عدد من الجوانب الفسلجية للفطر *R. solani*	٢٩
١-٦-٥-٣	النمو القطري لفطر *R. solani*	٢٩
٢-٦-٥-٣	الوزن الجاف لعزلة الفطر *R. solani*	٣٠
٢-٦-٥-٣	دراسة انتاجية الانزيم Exoglucanase FPase لعزلة الفطر *R. solani*	٣١
٧-٥-٣	تقدير الفعالية الانزيمية لانزيم Exoglucanase FPase	٣٣
٦-٣	تأثير التداخل في بعض العوامل البيئية مع مبيد التشجازول في انتاجية	٣٤

التسلسل	اسم الموضوع	رقم الصفحة
	انزيم Exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*	
٣-٦-١	تـاثير التـداخل بـين درجـة الحـرارة ومبيـد تشـجازول فـي انتاجيـة انـزيم Exoglucanase FPase والبروتين	٣٤
٣-٦-٢	تـأثير التـداخل بـين الـرقم الهيـدروجيني ومبيـد التشـيجازول فـي انتاجيـة انزيم exoglucanase FPase والبروتين	٣٥
٣-٦-٣	تـأثير التـداخل بـين ظـروف التهويـة ومبيـد تشـجازول فـي انتاجيـة انـزيم exoglucanase Fpase والبروتين	٣٥
٣-٧	التحليل الإحصائي	٣٦
الفصل الرابع: النتائج		
٤-١	تشخيص فطر *R. solani* واختبار القدرة الامراضية	٣٧
٤-٢	دراسة تأثير بعض العوامل البيئية على نمو الفطر *R. solani*	٣٩
٤-٢-١	تأثير درجة الحرارة في نمو الفطر *R. solani*	٣٩
٤-٢-٢	تـأثير التـداخل بـين درجـة الحـرارة ومـدة الحضـن فـي نمـو الفطـر *R. solani*	٤١
٤-٢-٣	تأثير نوع الأوساط الزرعية في نمو الفطر *R. solani*	٤٢
٤-٢-٤	تأثير التداخل بين نوع الوسط الزرعي ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٤٣
٤-٢-٥	تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani*	٤٣
٤-٢-٦	تأثير التداخل بين الأرقام الهيدروجينية ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٤٤
٤-٣	دراسة كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *R. solani*	٤٥
٤-٣-١	اختبار كفاءة مبيد التشجازول المضاد لنمو الفطر *R. solani*	٤٥
٤-٣-٢	اختبار تأثير التداخل بين مدة الحضن وتركيز مبيد التشجازول في نمو الفطر *R. solani*	٤٧
٤-٣-٣	اختبار كفاءة مبيد رايزولكس في تثبيط نمو الفطر *R. solani*	٤٨
٤-٣-٤	تأثير التداخل بين تراكيز مبيد الرايزولكس ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٤٩
٤-٣-٥	اختبار كفاءة مبيد بنليت في نمو الفطر *R. solani*	٥٠
٤-٢-٦	تأثير التداخل مابين تراكيز مبيد البنليت ومدة الحضن في نمو الفطر *R.*	٥٢

التسلسل	اسم الموضوع	رقم الصفحة
	solani	
٤-٣-٧	اختبار كفاءة المبيدات الفطرية في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف	٥٣
٤-٣-٧-١	تأثير مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف	٥٣
٤-٣-٧-٢	تأثير تراكيز مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف	٥٤
٤-٣-٧-٣	تأثير مبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف	٥٥
٤-٤	دراسة تداخل بعض العوامل البيئية ومبيد التشجازول المؤثرة في انتاج انزيم exoglucanase (FPase) والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*	٥٦
٤-٤-١	مدة الحضن	٥٦
٤-٤-٢	تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد تشجازول في انتاج انزيم exoglucanase (FPase) والبروتين لعزلة الفطر*R. solani*	٥٦
٤-٤-٣	تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد تشجازول في انتاج انزيم exoglucanase (FPase) والبروتين	٥٧
٤-٤-٤	تأثير التهوية والمزج ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase والبروتين	٥٨
الفصل الخامس: المناقشة		
٥-١	تأثير درجة الحرارة ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٦٠
٥-٢	تأثير نوع الأوساط الزرعية ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٦١
٥-٣	تأثير الرقم الهيدروجيني ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٦٢
٥-٤	دراسة كفاءة بعض المبيدات الفطرية ضد الفطر *R. solani*	٦٣
٥-٤-١	اختبار كفاءة المبيدات الفطرية في تثبيط النمو الفطري للفطر *R. solani*	٦٣
٥-٥	دراسة تداخل بعض العوامل البيئية ومبيد التشجازول المؤثرة في انتاج انزيم exoglucanase (FPase) والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*	٦٥
٥-٥-١	مدة الحضن	٦٥
٥-٥-٢	تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد تشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر*R. solani*	٦٥
٥-٥-٣	تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد تشجازول في إنتاج إنزيم exoglucanase FPase والبروتين	٦٦
٥-٥-٤	تأثير التداخل بين التهوية والمزج ومبيد تشجازول في إنتاج إنزيم exoglucanase FPase	٦٧
	الاستنتاجات	٦٩
	التوصيات	٧٠

التسلسل	اسم الموضوع	رقم الصفحة
	المصادر العربية	٧١
	المصادر الإنكليزية	٧٤
	الخلاصة باللغة الإنكليزية	A

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
١	تركيب السليلوز	١١
٢	التعاون الإنزيمي لإنزيمات التحلل السليلوزي حسب فرضية Mullings	١٣
٣	المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز	٣٢
٤	المنحنى القياسي للألبومين البقري	٣٣
٥	فطر *R. solani* النامي في وسط PSA بدرجة حرارة 25∓1	٣٨
٦	تأثير درجة الحرارة في نمو الفطر *R. solani* النامي في وسط PSA	٣٩
٧	تأثير درجة الحرارة في النمو القطري للفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٠
٨	تأثير نوع الوسط الزرعي في نمو الفطر *R. solani*	٤٢
٩	تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٤
١٠	تأثير مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٦
١١	تأثير مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٩
١٢	تأثير مبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٥١
١٣	تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase	٥٦
١٤	تأثير التداخل ما بين الرقم الهيدروجيني ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase	٥٨

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
١	تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤١
٢	تأثير التداخل بين نوع الوسط ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*	٤٣

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
٣	التداخل بين الأرقام الهيدروجينية ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي على الوسط الزرعي PSA	٤٥
٤	النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *R. solani* بمبيد التجشازول في الوسط الزرعي PSA	٤٦
٥	تأثير التداخل بين تراكيز مبيد تشجازول ومدة الحضن في نسبة تثبيط الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٧
٦	نسبة التثبيط لمبيد رايزولكس على نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٤٨
٧	تأثير التداخل مابين تراكيز مبيد رايزولكس ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٥٠
٨	نسب التثبيط لمبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٥١
٩	تأثير التداخل بين تراكيز مبيد البنليت ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA	٥٢
١٠	(تأثير تراكيز مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في وسط PSL	٥٣
١١	تأثير تراكيز مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في الوسط PS	٥٤
١٢	تأثير تراكيز مبيد البلنيت في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في وسط PS	٥٥
١٣	تأثير التداخل ما بين التهوية والمزج ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase	٥٩

الفصل الأول
المقدمة
Introduction

تتعرض مجموعة كبيرة من المحاصيل الحقلية والخضروات لكثير من المسببات المرضية في الحقول المكشوفة والمحمية، إذ تؤدي إلى اختلال في نمو النباتات واختزال إنتاجها وتدني نوعية المحصول (Abawi *et al.*, ١٩٨٦). يأتي في مقدمة تلك المسببات المرضية الفطريات التي يختلف تأثيرها كماً ونوعاً باختلاف الظروف البيئية كدرجة الحرارة والرطوبة والعمليات الزراعية. والتي تعد أكبر المجاميع وأهمها في أمراضية النبات، وهناك حوالي ٨٠٠٠ نوعاً من الفطريات تمتلك القدرة على التطفل على النباتات وهي متنوعة بشكل كبير وواضح في شكلها ودورة حياتها ودرجة تعقيدها في اصابتها للنبات (Dey and Harborine, ١٩٩٧).

إنَّ أكثر الفطريات خطورة على المستوى العالمي مسببات أمراض موت البادرات dampping off، وتعفن الجذور root rot وقواعد السيقان التي تؤدي إلى اختزال المساحات المزروعة بالمحصول. إذ بلغت نسبة الخسائر بهذا المرض في كوريا حوالي (٥-٥٠)% من نسبة الحاصل (Ohh, ١٩٨٦).

ويعد الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn أحد أهم تلك المسببات المرضية إذ تتعرض نباتات العوائل القرعية والباذنجانية وغيرها وفي مختلف مراحل النمو للإصابة بالفطر *R. solani*. كما أنه يهاجم نباتات الخضر وبعض نباتات المحاصيل الحقلية والزهرية وقد يهاجم الشجيرات والأشجار، ويتسبب في موت البادرات وعفن وتسوس الساق للنباتات النامية. ينتقل الفطر إلى الأراضي الزراعية عن طريق الأدوات والآلات الزراعية وبقايا النباتات والبذور الملوثة بالفطر.

وتبقى السيطرة على الأمراض المشكلة الرئيسة في المزارع العالمية، إذ استعملت الكثير من التقنيات الكيمياوية والفيزياوية والبايلوجية للسيطرة على حدوث الإصابة وتطورها ولكن مازال استعمال المبيدات الكيمياوية الفطرية يحتل مرتبة الصدارة في هذا المجال خاصة أن إمكانية السيطرة على الفطر *Rhizoctonia solani* باستعمال المبيدات الفطرية الجهازية من خلال معرفة تأثيرها على نمو الفطر وعدد الأجيال التي ينتجها وتداخله مع آليات إحداث الإصابة. فضلاً عن سهولة استعمالها وسرعة تأثيرها وتنوع أغراضها وتخصص بعضها في مكافحة مسبب أو مجموعة من المسببات المرضية فضلاً عن الأهمية الاقتصادية المثمرة في حالة استعمال المبيدات الكيمياوية وبالطرائق الصحيحة إذا ما أخذنا بنظر الاعتبار عدم وجود طرائق بديلة ناجحة في الوقت الحاضر يمكن من خلالها السيطرة على هذا الممرض على الرغم من ازدياد التوجهات في إيجاد بدائل للمكافحة الكيمياوية لأسباب صحية وبيئية إلا أن المكافحة الكيمياوية ما تزال تحتل المرتبة الأولى في المكافحة مقارنة بطرائق السيطرة الأخرى (McGrath,٢٠٠٤).

ولبيان تأثير بعض العوامل الفيزياوية والكيمياوية في نمو عزلة الفطر *R. solani* وبإنتاجه لإنزيم السليليز exoglucannuse Fpase تمحورت الدراسة حول الفقرات التالية:

١. دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو وتطور الفطر *R. solani* والمتمثلة بدرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني ونوع الوسط الزرعي.
٢. دراسة تأثير العوامل الكيمياوية والمتمثلة بالمبيدات الفطرية (تشجازول، رايزولكس، بنليت) في نمو الفطر *R. solani* بدلالة قطر المستعمرة والوزن الجاف للفطر.
٣. دراسة أهمية العوامل البيئية في إنتاجية إنزيم exoglucanase FPase المتمثلة بـ مدة الحضن ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني والمزج والتهوية.
٤. أهمية التداخل بين العوامل البيئية و مبيد تشجازول في إنتاجية الإنزيم exoglucanase FPase.

الفصل الثاني
استعراض المراجع
Literatures Review

٢-١ الأهمية الاقتصادية لفطر *R. solani*

يعد الفطر *R. solani* أحد أهم فطريات التربة الممرضة، الذي يتواجد في الترب الزراعية وغير الزراعية، ويسبب الامراض لمختلف المحاصيل مثل الرز والطماطة والفاصوليا وغيرها من المحاصيل، (Montealegre *et al.*, ٢٠٠٣).

أكتشف الفطر *R. solani* عام (١٨٥٨) على نبات البطاطا من قبل العالم Julius Kuhn (Ceresini, ١٩٩٩).

إن ما يزيد من الاهمية الاقتصادية لهذا الفطر هو امكانية انتقاله مع بذور النباتات، اذ تم عزله من بذور الحنطة والشعير والشوفان (Crosier *et al.*, ١٩٦٧). وعزل الفطر من بذور عشرة أصناف مختلفة تعود لنبات الحنطة، وكان لافرازاته تأثيراً كبيراً في اختزال نسبة انبات البذور لتلك الاصناف (سعيد، ١٩٨٦).

إن هذا الفطر يتواجد بشكل طبيعي في كثير من الترب، كما ان لقاحه المحمول على درنات البطاطا أدى إلى اختزال الإنتاج بنسبة ٣٥.١%. وتسبب في إحداث أضرار كبيرة بالمحاصيل الزراعية إذ يؤدي أحياناً إلى هلاك حقول بأكملها فضلاً عن أنه يسبب خفض نسبة الانبات وإضعاف النباتات النامية وتدني نوعية الحاصل (Wicks *et al.*, ٢٠٠١; Hall *et al.*, ٢٠٠٠; Carling *et al.*, ١٩٨٩). كما أن تطور الاصابة بهذا الفطر تكون سريعة إذ انه أدى إلى هلاك البادرات الحساسة خلال ستة او سبعة أيام (Christine *et al.*, ١٩٨١).

ان فطر *R. solani* من الفطريات الاختيارية الترمم التي تستطيع البقاء في الترب لمدة طويلة على بقايا النباتات والمادة العضوية على شكل خيوط فطرية سميكة الجدران resting mycelium أو بشكل تركيب قاسٍ ذي جدران مثخنة يعرف بجسم حجري Sclerotium (Wicks *et al.*,٢٠٠١; Hine, ١٩٩٩). تحاط الأجسام الحجرية بطبقة سميكة تسمح لها بالطفو في الماء أو البقاء في الظروف الجافة من فصل الى آخر (Ceresini, ١٩٩٩). وينتقل من عائل لاخر عن طريق تعلقه بنيماتودا nemotodes. كما ينتقل بوساطة الرياح المحملة بذرات التراب الملوثة بالفطر، إذ عُزل الفطر من ترب البيوت الزجاجية وجدرانها (Singh, ١٩٨٧).

ينتشر هذا الفطر بوساطة مياه الامطار ومياه الري وكذلك مع الأدوات وأي شيء يحتوي على الترب الملوثة وله القابلية على النمو والتكاثر عند توفر الظروف الملائمة من درجة حرارة ورطوبة مناسبة (Stephens *et al.*, ١٩٨٣).

وعند توفر الظروف الملائمة من رطوبة ودرجة حرارة ما بين ٢٠–٣٠مْ لتنبت هذه التراكيب مكونة الطور الكامل *Thantephorus curcumeris* اذ يصنف هذا الفطر ضمن صنف الفطريات البازيدية Basidiomycota رتبة Ceratobasidiales، و تنتج سبورات بازيديه يعرف Basidospores ينتقل بوساطة الهواء ليصيب الأوراق، الساق، الأزهار (Cartwright and Lee, ٢٠٠٢; Hine, ١٩٩٩).

اما الطور اللاجنسي فيمتاز بإنتاجه للأجسام الحجرية وتكوينه لغزل فطري غزير ويكوّن عند منطقة التفرع زاوية قائمة ٩٠ْ ويحتوي على نواتين في خلايا الخيط الفطري الواحد (Ceresini, ١٩٩٩; Agrios, ١٩٩٧).

٢-٢ المدى العائلي لفطر *R .solani*

يعد الفطر *R. solani* من الفطريات التي لها القابلية على اصابة مدى واسع من العوائل النباتية ذات الأهمية الاقتصادية مثل النباتات العشبية والشجيرات والأشجار، وأهمها العائله النجيلية، الخبازية, الباذنجانية و القرعية (Hollidey, ١٩٨٠).

وقد أشار Ogoshi (١٩٩٦) الى ان هذا الفطر يهاجم أكثر من ١٤٢ نوعاً نباتياً تعود الى ١٢٥ جنساً تنتمي الى عوائل نباتية مختلفة. كذلك تم عزل الفطر من الادغال والحشائش مثل الثيل والاستر المعمر ونباتات الزينة مثل الورد والقرنفل والداودي والاوركيد (Castro *et al.*, ١٩٨٣). أما في العراق فقد سجل وجود فطر *R. solani* على عوائل كثيرة إذ ذكر مصطفى (١٩٧٤) ان هذا الفطر يصيب نبات الفاصوليا والخس مسبباً لها تعفن الجذور، ويصيب الطماطا والباميا وأشجار الحمضيات مسبباً موت البادرات. وعزل الفطر *R. solani* من نباتات الحنطة من منطقة السويب والقرنة في البصرة (علوان، ١٩٩٦). أما الوائلي (٢٠٠٤) فقد أكد عزل الفطر *R. solani* من منطقتي سفوان والزبير خلال المواسم الثلاثة لزراعة محصول الطماطة.

يصيب الفطر *R. solani* النباتات في مختلف مراحل نموها (Christine *et al.*, ١٩٨١) إذ إن فطر *R. solani* يصيب الأجزاء النباتية تحت سطح التربة في العديد من النباتات الاقتصادية كما يسبب موت البادرات dampping-off (Jhooty and Grover, ١٩٧١).

ان القدرة المرضية للعزلات المختلفة تختلف فيما بينها في شدة الاصابة (Papavizas *et al.*, ١٩٧٥). وقد تمتلك العزلة الواحدة قدرة على اصابة اكثر من عائل (Al-Kaisi, ١٩٧٨; Parmeter and Whitney, ١٩٧٠; Tolbar and Moubasher, ١٩٦٤)

٢-٣ العوامل البيئية المؤثرة في نمو فطر *R. solani*

٢-٣-١ المدى الحراري لفطر *R. solani*

تعد درجة الحرارة أحد أهم العوامل البيئية المؤثرة في توزيع وانتشار وتكاثر الاحياء المجهرية وأي ارتفاع أو انخفاض في درجة الحرارة عن الدرجة المثلى يؤثر في نشاط الكائن المجهري من خلال التأثير في نموه وقابليته على إحداث الإصابة. وبينت الدراسات ان درجة الحرارة المثلى لنموه هي بحدود ٢٤-٢٨م^{o} (Raulanguiz and Carlosmartin, ١٩٨٩; Parmeter and Whitney, ١٩٧٠).

أما درجات الحرارة القصوى تقع ما بين ٣٠- ٣٥ م^{o} في حين تتراوح درجات الحرارة الدنيا ٥-٦م^{o} (Bateman and Dimock, ١٩٥٩). ان الضرر الناتج من الاصابة بفطر *R. solani* يعتمد بالدرجة الاساس على درجة الحرارة فضلاً عن رطوبة التربة إذ يصبح المسبب المرضي أكثر فتكا بالمحصول عندما تكون التربة رطبة ودرجة حرارة ٢٠–٣٠ م^{o} كما ان درجة حرارة ٢٨ م^{o} ورطوبة ١٥% كانت المثلى لنمو وتكاثر الفطر (Stromme and County, ١٩٩٩ ؛ الوائلي، ٢٠٠٤).

٢-٣-٢ نوع الوسط الزرعي وتأثيره في نمو فطر *R. solani*

ان معدلات نمو الفطر *R. solani* باستعمال وسط زرعي سائل تكون متوافقة لتلك المستعملة للوسط الزرعي الصلب، اما اهم المكونات التي لها تأثير في نمو الفطر فهما الكاربون والنتروجين اللذان يؤثران بشكل ايجابي او سلبي في نمو الفطريات (Meletiadis *et al.*, ٢٠٠١; Guenea-Estrella *et al.*, ٢٠٠١).

أما أهم المصادر الكاربونية المضافة الى الاوساط الزرعية فهي أما سكريات مثل كلوكوز، سكروز، مالتوز أو زيوت نباتية أو مواد طبيعية كالنشأ starch (البطاطا) (Lima *et al.*, ٢٠٠٣; Meletiadis *et al.*, ٢٠٠١). إن نمو الفطر *R. solani* له القابلية العالية للنمو على مصادر كاربونية مختلفة ولكن بشكل متفاوت ويعود هذا الى الاختلاف في استغلال المصادر باختلاف العزلة المدروسة، وان معدل نمو الفطر يكون اكبر في الوسط الحاوي على السكروز أو المالتوز مقارنة بالأوساط الحاوية على سكريات احادية او متعددة، أما المصدر النايتروجيني فهو يؤدي دوراً كبيراً ومهماً من خلال تأثيره أولاً على نوع المصدر الكاربوني الذي يمكن استغلاله، إذ أمكن الحصول على نمو جيد في أغلب الكاربوهيدرات المستعملة في الوسط الحاوي على نترات البوتاسيوم بالمقارنة مع الوسط الحاوي على كبريتات الامونيوم اذ

يعزى الى ان النترات ذات ذوابانيه عاليه في الم (Akai *et al.*, ١٩٦٠; Israel and Ali, ١٩٦٤).

وقد استعملت مجموعة من المصادر النايتروجينية العضوية وغير العضوية في تنمية الفطريات المختلفة، وتتضمن المصادر النايتروجينية العضوية بيبتون، خلاصة الخميرة، الاحماض الامينية الحرة (Drori *et al.*, ٢٠٠٣; Takasuka, ٢٠٠٠).

وكذلك لوحظ تبايناً في استغلال مصادر النيتروجين من قبل الفطر *R. solani* ، فقد تكون اليوريا مصدراً نتروجيناً ضعيفاً نتيجه لتكون الامونيا، في حين أعطى حامض اليوريك نمواً جيداً للفطرمما يشير الى ان تأثير اليوريا يتوقف على نوع العزلة المدروسة (Akai *et al.*, ١٩٦٠).

أما أهم الاوساط الزرعية المستعملة في عزل الفطر *R. solani* فهي الاوساط الحامضية مثل وسط أكار الماء Water agar ووسط البطاطا دكستروز أكار Potato dextrose agar ووسط الذرة Corn meal agar (Hine, ١٩٩٩; Abawi *et al.*, ١٩٨٦)، وقد استعمل وسط الاكار المائي Water Agar إذ كان أفضل الاوساط المستعملة في عزل الفطر *R. solani* (Vincelli and Beaupre,١٩٨٩)

٢-٣-٣ الرقم الهيدروجيني لفطر *R. solani* وتأثيره في النمو

يعد الرقم الهيدروجيني من العوامل البيئية المؤثرة وبشكل واضح على الكائنات الحية، إذ ان الاحياء والخلايا الحية بشكل عام تتحمل مدى واسع من الرقم الهيدروجيني في البيئة المحيطة به قياساً بالعمليات الخلوية التي تكون حساسة لأي تغير في الرقم الهيدروجيني ويتأثر نمو الفطريات بالرقم الهيدروجي لوسط النمو وإن أفضل رقم هيدروجيني هو من ٥ – ٦ (Williams and Wilson, ١٩٧٥).

وعلى الرغم من قدرة الكثير من عزلات الفطر *R. solani* على النمو في الرقم الهيدروجيني ٢.٦-٣.٠. اذ سجل أسرع نمو للفطر المذكور على وسط زرعي يتراوح رقمه الهيدروجيني من ٥ – ٧ وكذلك اشارت بعض الدراسات الى قدرة بعض العزلات على النمو في pH ٧.٨، في حين نمت عزلات أخرى عند pH ٨-١١ ولم يؤثر قوام الوسط الزرعي على الرقم الهيدروجيني المفضل اذ ان منحنيات النمو كانت متشابهة في الاوساط الزرعية الصلبة والسائلة (Sherwood, ١٩٧٠).

وقد أشارت بعض البحوث إلى تباطؤ نمو الفطر على وسط زرعي رقمه الهيدروجيني ٢.٥ في حين هنالك زيادة ملحوظة في النمو في رقم هيدروجيني يتراوح من ٣.٥ – ٦.٥ وانحسار في النمو عند رقم هيدروجيني يتراوح من ٧.٥ – ٨.٥، وكذلك فإن إضافة بعض

المخصبات للترب الزراعية ستؤدي إلى زيادة الحموضة فيها ومن ثم توفر ظرفاً ملائماً لتكاثر فطر *R. solani* ونموه (الكسندر، ١٩٨١; Stromme and County, ١٩٩٩).

٢-٤ الآلية الامراضية

ان معظم الفطريات المعروفة هي رمية المعيشة إذ تعيش على المادة العضوية، والقسم الآخر هي اجبارية او اختيارية التطفل او الترمم. وان درجة التخصص للامراضية يعود الى التخصص البايوكيمياوي للامراض، إذ ان المستوى الاساسي للتخصص الامراضي يمكن تعريفه بانه التمييز بين الأحياء المرضية والرمية، ومن ثم فانها تتضمن قدرة الفطريات على تكوين المستعمرات، البقاء بالقرب من البذور أو البقاء في الارض خلال دورة المحاصيل، أو انتاج سبورات تستطيع الانتقال لمسافات بعيدة مع الرياح ومياه الري والتصاقه بالنبات فضلاً عن قابليته على اختراق الكيوتكل، تحطيم مكونات جدار النبات (Dey and Harborine, ١٩٩٧).

أهم عوامل الامراضية فهي

٢-٤-١ انتاج الذيفانات Toxin

تعد الذيفانات المنتجة من بعض المسببات الممرضة للنبات إحدى العوامل المهمة التي تسبب الإصابة وقد تحدث ضرراً أو قتلاً للخلايا النباتية. وتفرز الذيفانات بتراكيز قليلة من البكتريا والفطريات التي يكون تأثيرها مباشراً على خلايا المضيف (Agrios, ١٩٩٧).

وتكون الذيفانات هي عبارة عن احماض عضويه بسيطه ومشتقاتهانواواحماض امينيه او سكريات معقده او كلايكوبروتين أو ببتيدات أو بروتينات سامة او تخليق رايبوسومي سام وان معظم الاحياء المجهرية تصنع على الاقل مركباً واحداً او مركبات عدّة (Dey and Harborine, ١٩٩٧).

٢-٤-٢ المواد الكابحة Suppressores

هي مواد مايكروبية لا تؤثر بشكل مباشر على النبات لكن يكون تأثيرها من خلال المساعدة في اختراق النبات وذلك بتثبيط الاستجابة الدفاعيه للنبات (Dey and Harborine, ١٩٩٧).

٢-٤-٣ إنتاج الإنزيمات

ان اول ارتباط بين الممرض والنبات المضيف هو التلامس والالتصاق مع سطح النبات إذ إن الجزء الهوائي من النبات يتكون من كيوتكل وسليلوز، في حين جذر النبات يتكون من السليلوز فقط. وان اختراق الممرض للانسجة البرانكيمية يتم من خلال تحطيم جدار الخلية المتكون من السليلوز والبكتين والهيمي سليلوز والبروتين التركيبي. أما الصفيحة الوسطى فتتكون من بكتين فضلاً عن اللكنين. وان أي تكسير لهذه المواد تتم بوساطة انزيم متخصص يفرز من قبل الممرض (Agrios, ١٩٩٧).

وبشكل عام فان الفطريات الممرضة للنبات تفرز انزيمات خارج الخلية extracellulare enzymes، في معظم مراحل الاصابة للمضيف (Manners, ١٩٨٢). أما أهم الانزيمات المحطمة لبوليمرات جدار النبات ولها دور في احداث الامراضية فهي:

$\alpha-1,٤$-polygalacturonase, Cutinase, Cellulase, pecticlyase, $\beta-$glucosidase, Lipase, $\beta-1-4$ Xylanase, Protease, Celliohydrolase, Pectin methyl esterse (Dey and Harborine, ١٩٩٧).

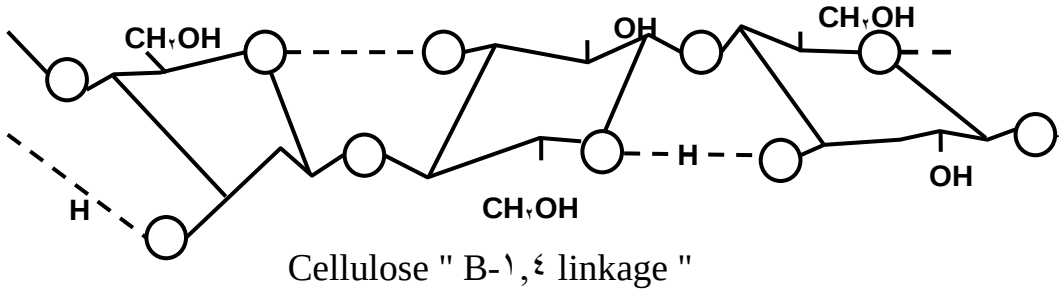
أما الفطر *R. solani* فإن له القابلية على تحليل المواد السليلوزية والبكتينية والكايتينية من خلال قدرته على افراز انزيم السليليز cellulase والبكتينيز Pectinase والكيوتينيز Cutinase (Ceresini, ١٩٩٩). وان هذه القابلية على التحليل مهمة في امراضية الفطر وبقائه حياً (Barker and Walker, ١٩٦٢).

وظهر في دراسة اخرى إن تنمية الفطرين *R. solani* و *Fusarium solani* المسببين لعفن جذور الحمص على بيئات غذائية تحتوي على مستخلص بذور الحمص أنتجت عدداً من الإنزيمات الخارجية مثل pecticlyase, pectinase, proteass, cellulase, hydrolase, Pectin methyl esterse (منقريوس وعبد الله، ١٩٨٤).

٢-٥ السليلوز Cellulose

يعد السليلوز من اكثر المواد العضوية المعقدة وفرة في الطبيعة، اذ ان غالبية المواد النباتية الموجودة في التربة سليلوزية (Eveleigh, ١٩٨٧).

السليلوز هو مادة كاربوهيدراتية تتكون من آلاف من وحدات الكلوكوز المرتبطة مع بعضها البعض بأواصر هيدروجينية من نوع (β) (Mullings,١٩٨٥)، ويتم تحليل السليلوز انزيمياً بفعل انزيم السليليز. ويوجد السليلوز في النباتات إذ يعد المادة الهيكلية لجدار الخلية وبشكل الياف دقيقة Microfibrilis (Eveleigh,١٩٨٧)، وتكون نسبة السليلوز في الانسجة النباتية مختلفة فهي تتراوح بين ١٢٪ في الانسجة غير الخشبية للحشائش، و ٥٠٪ في الانسجة الخشبية الناضجة و ٩٠٪ في الياف القطن (Agrios, ١٩٩٧).



Cellulose " B-١,٤ linkage "

شكل (١) يوضح تركيب السليلوز (Stryer, ٢٠٠٠)

٢-٦ تسمية الانزيم

تتكون الإنزيمات المحللة للسليلوز من معقد لثلاثة إنزيمات التي تم تسميتها طبقاً للتسمية النظامية للجنة الانزيمات التابعة للاتحاد العالمي للكيمياء الحياتية (Mullings, ١٩٨٥; Maheshwari *et al.*, ٢٠٠٠). وأهم هذه الإنزيمات:

١) الإنزيمات الداخلية endo-(١,٤)-B-Dglucanase

وتضم الإنزيمات المعروفةcarboxy methyl cellulase و endocellulase و endoglucanase وسميت بـ EC٣.٢.١.٤ وتتميز هذه الإنزيمات بتحليل المائي للرابطة.

٢) الإنزيمات الخارجة exo-(١,٤)-D-glucanase

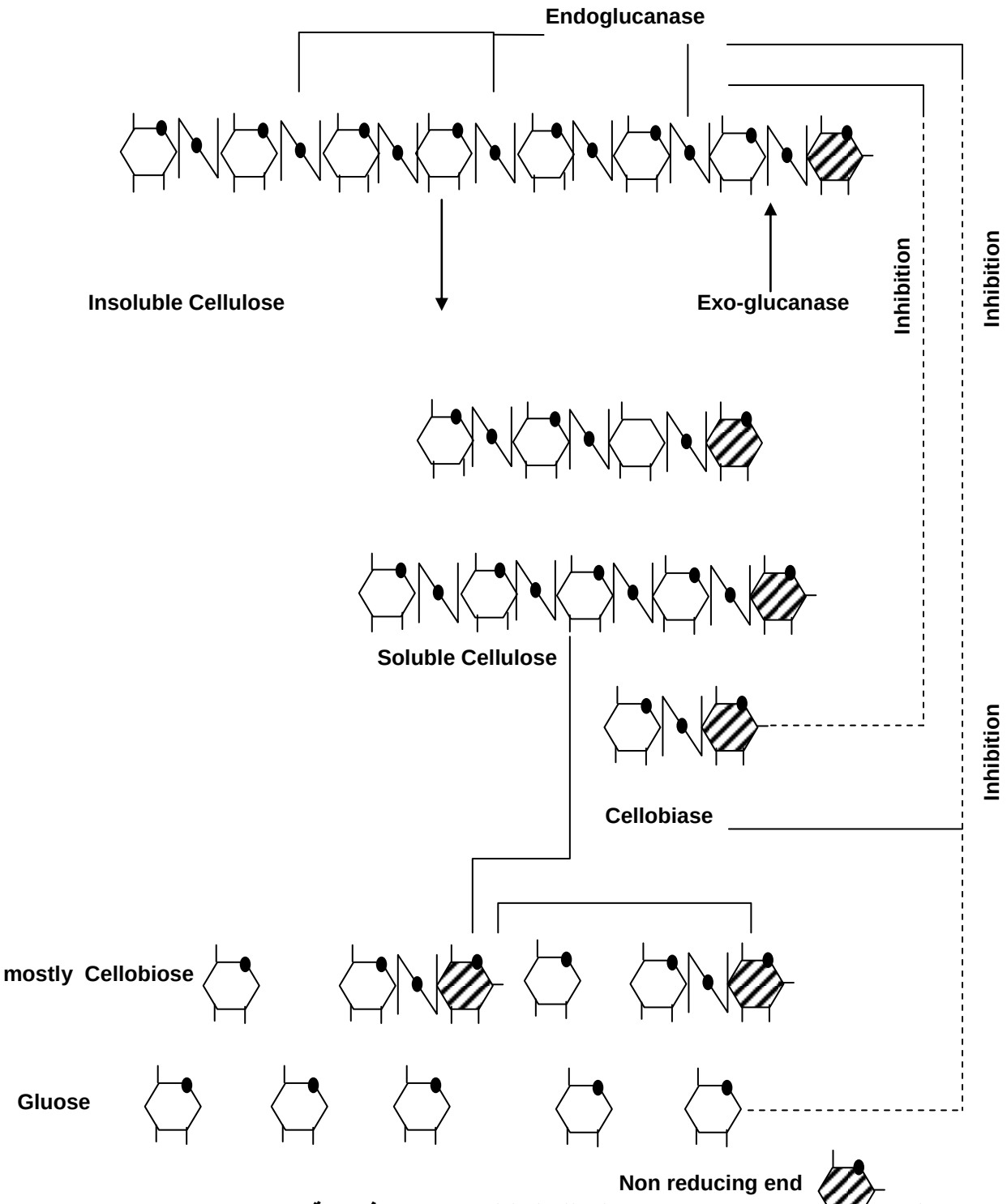
وتضم الإنزيمات المعروفة exocellulase micro crystalline و Cellobiohydrolase و وAvicelase وcellulose التي تم تسميتها [EC ٣.٢.١.٩١] ويكون الناتج النهائي Cellobiose من الجهة المختزلة او غير المختزلة بشكل عام من الجزء البلوري للسليلوز.

٣) Glucosidase

المعروفة بـ Cellobiase وسميت بـ [EC ٣.٢.١.٢١] التي يكون ناتجها النهائي الكلوكوز من السليوبايوز وسلسلة قصيرة من السكريات Celleoligosaccharides

٢-٧ آلية عمل الإنزيمات المحللة للسليلوز

يعد السليلوز من البوليمرات الكاربوهيدراتية المعقدة التي تحتاج في تحللها الى عمليات انزيمية خاصة تعمل على تحويل السليلوز الى وحدات سكرية أحادية وثنائية ذائبة في الماء. وقد وضعت مجموعة من الفرضيات التي تفسر كيفية عمل معقد الانزيمات المحللة للسليلوز، وأهمها فرضية Mulling (١٩٨٥) التي توضح آلية عمل معقد الانزيمات المحللة للسليلوز. إذ تبين تأثير انزيم Endoglucanase على المناطق البلورية للسلسلة السليلوزية في الأجزاء الداخلية للجزيئة في حين تقوم انزيمات Exo-glucanase بمهاجمة النهايات غير المختزلة للسلسلة الرئيسة للسليلوز او السلاسل المتكونة بتأثير انزيمات Endoglucanase ومن خلال ازالة وحدات سكر السلوبايوز من قبل إنزيم Cellobiohydrolase ووحدات سكر الكلوكوز بفعل انزيم exo-*B*-D-١,٤-glucosidase فيما يشارك انزيم B-glucosidase في تحويل السكر الثنائي السلوبايوز الناتج الى وحدات السكر الاحادي الكلوكوز.



شكل (٢) الحازر الانزيمي لانزيمات التحلل السليلوزي حسب فرضية Mullings (١٩٨٥)

٢-٨ العوامل المؤثرة في انتاج الانزيمات المحللة للسليلوز

تنتج اغلب الاحياء المجهرية عدة إنزيمات اثناء نموها. وتوجد مجموعة من العوامل تؤثر في انتاجها منها: المكونات الغذائية لوسط التخمر ومصادر الطاقة ومدة الحضن و أطوار النمو المايكروبي والرقم الهيدروجيني pH ودرجة الحرارة والتهوية.

٢-٨-١ مكونات الوسط الزرعي

يؤمن الوسط الزرعي الملائم النمو الامثل للكائن المجهري. فيما يحصل اعلى انتاج للانزيمات في الاوساط الزرعية التي تضم المواد الأساسية والمشجعة للنمو فضلاً عن المواد المحثة للتعبير الجيني لتخليق الإنزيمات مثل الاحماض الامينية والفيتامينات والعناصر المعدنية وتركيز المادة الكاربوهيدراتية، كذلك تشترك عوامل أخرى مثل التهوية (حسن، ١٩٧٩).

واهم هذه المصادر التي يجب ان تتوافر في الوسط الزرعي هي الكاربون والنتروجين ومواد داعمة ومحفزة للانتاج. فمثلاً نلحظ ان المصدر الكاربوني يحفز النمو ولكن يتباين تاثيره على انتاج الانزيمات فقد يكون محفزاً للانتاج او كابحاً للانتاج حسب متطلبات الكائن المجهري ونوع المصدر الكاربوني. فمثلا النشأ يكون محفزاً لانتاج انزيم السليليز عند اضافة ١٠غم/لتر، من النشا إلى الوسط الزرعي المستعمل لإنتاج الإنزيم من الفطر *Trichoderma reesei* إذ يزداد معدل إنتاج إنزيم β -glucosidase الى الضعف (Taj-Aldeen, ١٩٩٣ Duff *et al.*, ١٩٨٦).

أما المصادر النايتروجينية المحفزة لانتاج معقد الإنزيمات المحللة للسليلوز فهي سلفات الامونيوم والبيبتون، إذ يزداد إنتاج الإنزيم والكتلة الحية للخلايا أما إضافة اليوريا للوسط فتزيد من إنتاج انزيمات endoglucanase وCellobiohydrolase.

٢-٨-٢ مدة الحضن وأطوار نمو الكائن المجهري

لا توجد علاقة ثابتة بين مدة الحضن ونمو الاحياء المجهرية وانتاج الانزيمات الخارجية إذ هناك تلازم طردي بين إنتاج الإنزيمات الخارجية والنمو المايكروبي تتباين تلك العلاقة تبعاً للكائن المجهري والانزيم وعوامل النمو المختلفة. تم بعد مدة ٤ أيام (الدليمي، ٢٠٠٢).

في حين ذكر حسن (١٩٧٩) ان تحديد بعض المؤشرات كالزمن والنمو والإنتاج، ولاسيما إنتاج الإنزيمات الخارجية Exoenzyme غير مثبتة وتتغير بالاعتماد على نوع الانزيم وظروف النمو للاحياء.

وهناك أسباب كثيرة تؤثر في انخفاض إنتاج الإنزيمات منها ألياف الكبح الجيني وتغير طبيعة الوسط والرقم الهيدروجيني وآليات الكبح للتغذية الاسترجاعية وموت الكائن المجهري وإنتاج إنزيمات البروتين التي تحلل بقية الإنزيمات وإفراز بعض المثبطات للوسط أثناء وصول النمو لطور الثبات وغيرها فضلاً عن بعض المنتجات تتفكك وتتعرض للمسح نتيجة لتغير ظروف الثبات الإنزيمي أو تعرضها للأكسدة، فمثلاً يصل الفطر *Stachybotrys* إلى أعلى انتاجية للسليلوز بعد ١٢-١٨ يوماً وفيما بعد يبدأ الإنتاج بالانخفاض، في حين ينتج *Sporotrictum punosoly* أعظم كمية من انزيم سيليليز بعد مدة ٣-٤ يوماً. إن إنتاج إنزيم السليليز من قبل الفطر *Sporotrictum cellulophilum* يبلغ حدوده القصوى بعد مرور ٤٠-٦٠ ساعة من الحضن في حين يحتاج الفطر *Trichoderma_reesei* إلى مدة حضن تتراوح بين ١٠٠-١٦٠ ساعة لانتاج أعلى مستوى انزيم السليليز (Kim *et al.*, ١٩٨٥).

٢-٨-٣ الرقم الهيدروجيني pH

إن الرقم الهيدروجيني pH الأمثل لأفضل إنتاجية للإنزيمات الخارجة يكون غالباً مقارب لـ pH الأمثل لفعاليتها مع وجود بعض استثناءات (الدليمي، ٢٠٠٢). وهذا ما أشار إليه أيضاً حسن (١٩٧٩) إذ أوضح أن الـ pH الملائم لإنتاج الإنزيمات الخارجية يتقارب مع الرقم الهيدروجيني للفعالية الإنزيمية.

وقد تمتلك بعض الإنزيمات فعالية إنزيمية عالية عند قيمتين من الرقم الهيدروجيني وهذا ما أثبت في إنزيم البروتيز في *Trichoderma harzianum* الذي يكون الرقم الهيدروجيني الأمثل للفعالية هو ٧.٥ – ١٠.٠ (DeMarco and Felxi, ٢٠٠٢).

٢-٨-٤ درجة الحرارة

ان درجة الحرارة المثلى لنمو الكائن المجهري لا تكون دائما هي المثلى لانتاج الانزيمات، إذ بينت بعض التجارب إن درجة الحرارة المثلى لانتاج الانزيمات أوطأ من تلك التي تكون مثلى لنمو الكائن المجهري (الدليمي، ٢٠٠٢). فقد وجد أن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر *Aspergillus niger* كانت ٣٠ مْ في حين أن إنتاج إنزيم بكتين استريز Pectin esterase هي ١٢م^{o} (حسن، ١٩٧٩). كذلك تعتمد درجة الحرارة على نوع الكائن المجهري إذ وجد أن درجة حرارة ٣٤م^{o} هي المثلى لانتاج انزيم البروتيز من الفطر *Aspergillus oryzae* والفطر *Pencillium. expansum* (Aubaid and Muhsin, ١٩٩٥; Dahot, ١٩٩٤)، في حين كانت درجة حرارة ٣٧ م^{o} هي المثلى لانتاج انزيم البروتيز من الفطر *Microsporium canis*. أما الدرجة الحرارية المثلى لانتاج انزيم سليليز من الفطريات فتكون بحدود ٣٠م^{o}. في حين درجة حرارة ٤٥م^{o} هي المثلى لانتاج انزيم السليوليز والبرويتيز من بعض انواع الاعفان المتحملة للحرارة العالية في وسط بنجر السكر (حسن، ١٩٩٦).

٢-٨-٥ التهوية

إن التهوية والمزج للاوساط الزرعية ذات أهمية كبيرة في انتاج الانزيمات من الاحياء المجهرية الهوائية، وتتباين التقارير العلمية التي تتعلق باهمية التهوية في انتاج بعض الانزيمات الخارجية بوساطة الاحياء المجهرية الهوائية.

التهوية تكون ضرورية لنمو الأحياء المجهرية الهوائية لتكوين الكتلة الحيوية رغم تباين الحاجة للتهوية في إنتاج الإنزيمات، إذ وجد ان الفطر *Stachybotrys atra* يحتاج لتهوية معتدلة لانتاج انزيم السليليز Cellulase. في حين لاينتج الفطر *Aspergillus foetidus* انزيم Pectinase في ظروف هوائية نتيجة المزج (حسن، ١٩٧٩; الدليمي، ٢٠٠٢). وتختلف الحاجة للمزج والتهوية ما بين الاحياء المجهرية والفطريات والبكتريا إذ ان الفطر *M. canis* تتطلب تهوية بمعدل سرعة مزج ١٥٠ دورة/دقيقة (Lee *et al*, ١٩٨٧) لانتاج انزيم الكيراتينيز. في حين البكتريا الخيطية *Streptomyces folbidoflavios* يتطلب تهوية شديدة مقدارها ٥٠٠ دورة/دقيقة لانتاج انزيم الكيراتينيز(Bressollier *et al.*, ١٩٩٩).

٢-٩ السيطرة الكيمياوية

على الرغم من المشاكل البيئية التي احدثها استعمال المبيدات الكيمياوية إلا انها ساهمت بشكل فعال في زيادة انتاج المحاصيل الزراعية عن طريق حمايتها من تأثير الآفات المختلفة. كذلك أدت دوراً متميزاً في مجال الصحة العامة وقد أوضحت بعض الدراسات المعتمدة في أقطار مختلفة انه من الصعب الحصول على انتاج اقتصادي دون استعمال المبيدات في الإنتاج الزراعي. إذ أشارت الدراسات الى الدور المهم الذي تؤديه المبيدات في دورة حياة النبات. وهذا ما يعتقده بعض المختصين بأهمية المكافحة الكيمياوية إذ يحتاج النبات للمبيدات كحاجته للتسميد (Sharma *et al.*, ٢٠٠٠).

على الرغم من التوجهات الجادة في اعتماد المكافحة الاحيائية بديلاً للمكافحة الكيمياوية، والنتائج الايجابية التي توصلت اليها المكافحة الاحيائية لكن لا يمكن الاستغناء عن المكافحة الكيمياوية لصعوبة السيطرة على الامراض النباتية. وتعرف المواد الكيمياوية التي تستعمل لحماية المحاصيل الحقلية ضد الأمراض الفطرية بالمبيدات الفطرية Fungicid. ومن الضروري اختيار المبيد الذي يضمن المكافحة الناجحة للممرض دون ان يسبب ضرراً للمحاصيل. ويتحدد نوع ومستوى المكافحة باختلاف المحصول والظروف البيئية ونوع الكائن الممرض (Burnts and Benson, ٢٠٠٠; McMuller and Lamey, ٢٠٠٠; Lipps *et al.*, ٢٠٠٠)

وقد استعمل Grover and Virk (١٩٧٥) مبيد Thiophanate-methyl-Topsin-M الجهازي للسيطرة على الفطر *R. solani*، ان معاملة التربة بهذا المبيد بتركيز ٠.٢٥% أعطى ٩٠% مقاومة ضد الفطرالمذكور في نباتات الباذنجان والبطيخ والفاصوليا وقصب السكر.

كما ان استعمال هذا المبيد بنسبة ١٠% من وزن البذور قد أعطى نتيجة جيدة في مقاومة موت بادرات اللهانة. (Yada and Masashi, ١٩٨٣; Kataria and Grover, ١٩٧٦)

أما مبيد البنليت Benlate فقد كان أكثر فعالية في مقاومة موت البادرات قبل البزوغ بعكس مبيد Topsin-M (Taneja, and Grover ١٩٨٢).

واستعمل Al-Beldawi and Pinckard (١٩٧٠) مبيد البنليت في مقاومة موت بادرات القطن وحصلا على افضل مكافحة للمرض باستعمال تراكيز ٤٠ , ٨٠ جزء /المليون من المبيد. كما استعمل المبيد بنجاح في مكافحة الكثير من الفطريات الممرضة للنبات مثل *R. solani*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* (شعبان والملاح، ١٩٩٣).

وقد أثبت الكثير من الباحثين حساسية الفطر *R. solani* لهذا المبيد، فقد ذكر طه (١٩٨٢) حساسية الفطر *R. solani* لتراكيز مبيد البنليت ٠.٠٥، ٠.١، ٢% اذ لاحظ عدم مقدرة هذا الفطر في النمو على وسط PDA الحاوي على هذه التراكيز، وأشار البهادلي وجماعته(١٩٨٨) الى ان الفطر نفسه فشل كليا في النمو على وسط PDA الحاوي على المبيد بنليت بتراكيز ٥٠، ١٠٠ ، ١٥٠، جزء بالمليون.

وذكر بدن (١٩٩٦) ان معدل النمو الفطري ومعدل الوزن الجاف للفطر *R. solani* قد ثبط في الوسط الغذائي PDA وPD المحتوي على المبيد بنليت وبتركيز ٥٠٠ جزء/مليون.

ان المبيدات PCNB وTerraclor وBenlate وDemosan مثبطة للفطر *R. solani*. وان المبيدات PCNB وCaptan وManeb هي من المبيدات الفطرية العلاجية التي تساعد في القضاء على مدى واسع من فطريات التربة الممرضة، إذ يوفر Captan حماية ضد أمراض *Rhizoctonia* و *Fusarium* (McMuller and Lamey ٢٠٠٠; Abawi and Cobb, ١٩٨٤).

وظهر كفاءة مبيد Maxin في تثبيط نمو فطر *R. solani* الذي يصيب الذرة في حين أظهر مبيد Maxin و Rival كفاءة عالية لتثبيط الفطر *R. solani* الذي يصيب فول الصويا في مدينة أوهايو Ohio الأمريكية (Lipps *et al.*, ٢٠٠٠).

ويستعمل المبيدان Flutolanil و Tolclofos-methyl لتثبيط نمو الفطر *R. solani* وبالتركيز نفسه. وإن معاملة الدرنات بمبيد Rival وRizolex وMonceren حيث أظهرت كفاءة عالية ضد فطر *R. solani* أما معاملة التربة فتكون باستعمال التبخير بمبيد methan sodium (Wicks *et al.*, ٢٠٠١; Koster and Meer, ١٩٩٠).

وأظهر مبيد Monceren كفاءة عالية في حماية النبات في طور ما قبل البزوغ عند معاملة التربة به، يليه مبيد Rizolex بالدرجة الثانية (رمو، ١٩٨٧)، ويعد مبيد Rizolex ذا تأثير قوي ويمكث في التربة لمدة أطول ويقضي على الكثير من المسببات المرضية الفطرية

الموجودة في التربة وعند خلطه مع مبيد Hymexozel يصبح فعالاً ضد مجموعة كبيرة من الفطريات مثل *Pythium*، *Fusarium*، *R. solani* (Mc Muller and Lamey, ٢٠٠٠).

٢-١٠ آلية تأثير المبيدات

يتكون جسم الكائن الحي من مركبات عضوية ولا عضوية مركبة بشكل تمكنه من القيام بالعمليات الحيوية المختلفة كالاستفادة من الطاقة وصناعة المركبات الحيوية من خلال المسارات الأيضية والميتابولزم والتكاثر وغيرها من العمليات.

وهناك مجموعة من العوامل او المؤثرات تعمل على إحداث خلل في هذه الانظمة البايولوجية، ومن أهم هذه المؤثرات المبيدات، إذ تتخصص المادة الكيمياوية للمبيدات في إحداث خلل في نسيج معين او مركب حيوي او تفاعل في جسم الكائن الحي (العادل وعبد، ١٩٧٩).

وحاول الكثير من الباحثين دراسة آلية التأثير السام للمبيد الكيمياوي وتحديد الموقع الحساس لفعل المبيد. وقد اظهرت هذه الدراسات بعض الصعوبات لتداخل التفاعلات والفعاليات الحيوية في انسجة الكائن مما يتطلب تتبعاً دقيقاً للمادة السامة داخل النسيج الحي ومتابعة تأثيرها في التفاعلات الحيوية المختلفة (العادل وعبد ١٩٧٩، شعبان و الملاح، ١٩٩٣)، والمبيدات عادة تستعمل امالوقاية النبات ضد دخول الممرض او علاجية إذ يختلف تأثيرها أما بالملامسة أو إعاقه جهازية ، إذ تعمل المبيدات الجهازية أحياناً على تثبيط قدرة الممرض على تحليل بعض المواد الاساسية في جدار الخلية. قد تكوّن المبيدات معقدات مع بعض الإنزيمات الأساسية ويؤدي إلى ترسيب البروتين للممرض على سبيل المثال الكبريت يُختَزل الى كبريتيد الهيدروجين H_2S وهو سام لمعظم البروتينات الخلوية ومن ثم يقتل الخلية. أيون النحاس Cu^{+2} هو سام لكل الخلايا نتيجة لتفاعله مع مجموعة الثايول (SH–) لبعض الاحماض الامينية وحدوث للبروتين والانزيم. ويسبب مسخ البروتين وفقدان فعالية الإنزيمات المحتوية على SH– في موقعها الفعال. وكذلك بعض المبيدات الفطرية مثال ذلك PCNB وكابتان وغيرها تتفاعل مع مجموعة الأمين NH_2– والثايول SH– والانزيمات الفعالة التي تمتلك مثل هذه المجاميع (Agrios, ١٩٩٧). في حين ان مبيد Dithane-z-٧٨ يعمل كمطفر جيني يسبب طفرة قادرة على مقاومة التراكيز العالية من المبيد، أو ان تعمل على تثبيط النمو للكائن الحي مثل phygonxl DDT (Szegi, ١٩٧٧). ووجد ان مبيد البنليت يثبط فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline phosphatase) في الخيوط الفطرية عند التراكيز الواطئة ($1\mu gm^{-1}soil$). في حين مبيد Fenpropimorph يثبط فعالية انزيم الفوسفايتز القاعدي في الخيوط الفطرية عند التراكيز العالية ($1\mu gm^{-1}soil$) (Kjoller and Rosendahl, ٢٠٠٠).

وفي دراسة اخرى اثبت ان البنليت يتحول بسرعة الى Carbendazim والاخير يؤثر في عملية تضاعف الحامض النووي الـ DNA أثناء عملية الانقسام الخلوي للخلية الفطرية وهناك دراسات تشير الى مجموعة من التفسيرات المحتملة للتأثير السام للمبيدات الفطرية وهي أما تفاعل المبيدات مع الانزيمات الحيوية او تفاعلات الاكسدة والاختزال او التأثير في المركبات الحيوية بما يؤثر في المناعة الحيوية للمركبات التي تحتاجها الخلية الفطرية إذ ان اتحاده مع بعض الاحماض الامينية يؤثر في عملية تخليق البروتين(شعبان و الملاح، ١٩٩٣).

٢-١١ تأثير بعض العوامل البيئية في فعالية المبيد

هناك مجموعة من العمليات التي تحدد مصير المبيدات في البيئة إذ تعمل على توفير الحالة الملائمة لفعالية هذه المبيدات او تحولها الى اشكال اقل سمية. وهذه العمليات تتأثر بمجموعة من العوامل البيئية التي تساعدها في تحويل المبيدات الى اشكال اخرى.

أشار Brown ,*etal.*(١٩٩٧) إلى المراحل التي يمر بها المبيد عند استعماله في البيئة وتشمل الادمصاص ثم الانتقال يليه التحلل وهناك العديد من العوامل المؤثرة في عملية تحلل المبيدات منها ضوء الشمس والماده العضويه والرطوبة والحرارة ودرجة الحموضة ونسجة التربة والمحتوى المايكروبي للتربة والذي يتأثر بدوره بالعوامل المذكورة أعلاه حيث ان فعالية المبيدات تتأثر بمجموعة من العوامل البيئية، وهذه العوامل تؤثر بشكل مباشر وواضح في جميع عمليات التكسير للمبيدات. إذ وجد أن عملية تحطيم المبيدات بوساطة الاحياء المجهرية تتأثر بمجموعة من العوامل إذ تكون في أوجها عند الجو الدافئ الرطب والتربة جيدة التهوية والرقم الهيدروجيني المتعادل.

وان عملية التكسير بالأحياء المجهرية بوساطة الانزيمات يصل الى الضعف لكل ١٠م° زيادة ما بين ١٠-٤٥ م°، في حين أن الفعالية الانزيمية تنخفض بشكل كبير عند الارتفاع او الانخفاض عن هذا المدى من درجات الحرارة (Kerle *et al.*, ١٩٩٦).

ونلاحظ تأثيراً ثانياً لدرجة الحرارة، إذ انه عند درجة حرارية معينة نلاحظ زيادة السمية للمبيد ولكن عند درجة حرارة أعلى او أقل نلاحظ انخفاض السمية وهذا ما يعرف Negative Temperature coefficient المعامل الحراري السالب او تكون الحرارة مسؤولة عن نشاط الانزيمات المحطمة للمبيدات كذلك تؤثر في الخواص الفيزياوية والكيمياوية للمبيد (العادل وعبد،١٩٧٩).

الفصل الثالث

مواد وطرائق العمل

Materials & Methods

٣-١ المواد الكيمياوية Chemical

ت	المادة الكيمياوية	الشركه المجهزه
١	Glucose	BDH
٢	HCl	BDH
٣	Na_2CO_3	BDH
٤	$NaHCO_3$	BDH
٥	Na_2SO_4	BDH
٦	H_2SO_4	BDH
٧	CH_3COONa	BDH
٨	Agar	BDH
٩	Malt extract Agar	BDH
١٠	NaOH	BDH
١١	Na_2SO_4	BDH
١٢	H_2SO_4, ^7H_2O	BDH
١٣	Na-K tortorate	Fluka
١٤	Urea	Fluka
١٥	$CaSO_4$, ^7H_2O	Fluka
١٦	$(NH_4)_6$ MO_7O_{24}, ^4H_2O	Fluka
١٧	Filter paper	Whatman
١٨	CM. Cellulose.	Whatman
١٩	Bovin Serum albumin	Sigma

٣-٢ المبيدات الكيمياوية

١) مبيد تشجازول Tachigazol:وهو مبيد فطري جهازي و من مجموعة Oxazole fungicides الماده الفعاله فيه هيكسازول Hyemxazol ويعادل ٣٠٪ من هيكسازول النقي ,.صيغته الكيميائية $C_4H_5NO_2$, من انتاج شركة Vapco الاردنية.

٢) مبيد رايزولكس Rizolex : وهو مبيد علاجي ووقائي من مجموعة Organophosphorus fungicides ألماده الفعالةTolclofos methyl ٥٠٪

صيغته الكيميائية $C_9 H_{11} Cl_2 O_3 P_2$,من انتاج شركة Sumtome Chemical اليابانية.

٣) مبيد بنليت Benlat: وهو مبيد فطري جهازي من مجموعة Benzimidazol fungicides الماده الفعاله هي

Methyl-١- (bytyl-Carbamoyl -٢- benzenimdazol carbamat) ٥٠٪

صيغته الكيميائية $C_{14}H_{18}N_4O_3$,من انتاج شركة Vapco الاردنية.

وقد تم الحصول على المبيدات اعلاه من الاسواق المحلية.

٣-٣ الأوساط الزراعية

٣-٣-١ Potato Sucrose Agar PSA

حضر وسط PSA بمزج ml ٢٠٠ من عصير البطاطا، مع gm ٢٠ سكروز,gm١٨من الاكار في لتر واحد من الماء المقطر مع اضافة المضاد الحياتي الكلورمفينكول mg/L٢٥ مع تعقيم المزيج بوساطة جهاز التعقيم المؤصدة بدرجة حرارة 121^oC وضغط واحد بار ولمدة ربع ساعة.

٣-٣-٢ وسط Potato Sucrose PS السائل

حضر وسط PS بمزج ml ٢٠٠ من عصير البطاطا، gm ٢٠ من السكروز في لتر واحد من الماء مع اضافة المضاد الحياتي الكلورمفينكول mg/L٢٥ وتم التعقيم كما في الفقرة (٣-٣-١).

٣-٣-٣ وسط Malt Extract Agar

تم تحضير الوسط الجاهز من شركة BDH باذابة gm٥٠ من الوسط في لتر واحد من الماء المقطر المعقم واضافة mg/L ٢٥ من المضاد الحياتي الكلورمفينكول وقد تم تعقيمه بالمؤصدة كما في الفقرة (٣-٣-١).

٣-٣-٤ وسط Sabouroud Agar

حضر الوسط باذابة ٦٢ gm من وسط Sabouroud agar والمجهز من قبل شركة Oxoid في لتر واحد من الماء المقطر المعقم مع اضافة المضاد الحياتي كلورمفينكول وتم تعقيم الموصدة كما في الفقرة (٣-٣-١).

٣-٣-٥ وسط انتاج الانزيم

استعمل Picard *et al.* (٢٠٠٠) وسط البطاطا سكروز PS السائل المحور لانتاج الانزيم والمكون من ١٠٠ gm مستخلص البطاطا، ١٠ gm سكروز، ١٠ gm اوراق السيليلوز Whatman No.١ ابعادها ٢×٤ cm مصدر سليلوزي. ١٠ مل من محلول اليوريا لكل واحد لتر ماء مقطر.

تم تعقيم الوسط بجهاز التعقيم المؤصدة Autoclave، ماعدا محلول اليوريا المعقم بالترشيح تم اضافته بعد تعقيم الوسط الزرعي والمضاد الحياتي كلورمفينكول المعقم بالترشيح ٢٥ mg/L.

٣-٤ المحاليل

٣-٤-١ محلول اليوريا

حضر باذابة ٣ gm من اليوريا في ١٠٠ ml ماء مقطر. عقم بوساطة الترشيح الدقيق من خلال ورق الترشيح ٠.٢٢ .Millipore filter No.

٣-٤-٢ المحلول المنظم

A) تم اذابة ١٦.٤ gm من خلات الصوديوم CH_3COONa في لتر واحد من الماء المقطر للحصول على تركيز ٠.٢M للمحلول.

B) حضر لتر واحد بتركيز ٠.٢M من حامض الخليك المخفف ذات عيارية ١٧.٤١.

ولتحضير دارئ الخلات acetate buffer وبرقم هيدروجيني ٥.٢ تم مزج ٧٩٠ مل من محلول A و ٢٠ ml من محلول B وضبط الرقم الهيدروجيني بجهاز pH-meter ثم اضيف ٠.٠٤ من ازايد الصوديوم sodium azid لمنع النمو المايكروبي.

٣-٤-٣ محاليل Somogyi-Nelson

A) محلول Somogyi الذي يتكون من:

- محلول رقم ١

حضر باذابة ٦ mg من تارترات الصوديوم-البوتاسيوم و ١٢ gm من كاربونات الصوديوم اللامائية في ١٢٥ ml من الماء المقطر، اضيف اليها ٢ gm من كبريتات الصوديوم الحامضية ورشح المحلول.

- محلول رقم ٢

حضر باذابة mg ٩٠ من كبريتات الصوديوم اللامائية في ٢٥٠ مل ماء مقطر الساخن على خلاط مغناطيسي لحين اختفاء الفقاعات الهوائية، رشح المحلول وهو ساخن. خلطت مكونات المحلول A مع المحلول B، وأكمل الحجم بالماء المقطر الى ٥٠٠ ml .

B) محلول Nelson

ويتكون من اذابة gm ٢٥ من مولبيدات الامونيوم في ٤٥٠ ml ماء مقطر، ثم وضع على الخلاط المغناطيسي وسخن تسخينا خفيفاً. وزن gm ٣ من ارسينات الصوديوم وذوبت في ٢٥ ml ماء قطر مع الرج المستمر أضيف إليه وبالتدريج ٢١ مل من حامض الكبريتيك المركز.

خلطت المحتويات وأكمل الحجم الى ٥٠٠ ml، وضع المحلول في حمام مائي درجة حرارته ٥٥ م ولمدة ٢٥ دقيقة وحفظ المحلول في قنينة داكنة وفي درجة حرارة المختبر لحين الاستعمال.

٣-٤-٤ محلول النحاس القاعدي

حضر باذابة ٠.١% من تارترات الصوديوم-البوتاسيوم و ٠.٠٥% من كبريتات النحاس المائية و ١٠% من كاربونات الصوديوم في ١٠ ml من ٠.٥M لقاعدة NaOH.

٣-٤-٥ كاشف الفولن– سياكاليتو Folin-Ciocalteu

حضر (١N) من الفولن–سيتاكاليتو لاستعماله في تجربة تقدير البروتين.

٣-٥ طرائق العمل

٣-٥-١ مصدر اللقاح الفطري

تم الحصول على عزلة الفطر *R. solani* من مختبر الدراسات العليا لكلية الزراعة-جامعة بغداد-قسم وقاية النبات في خريف ٢٠٠٣.

٣-٥-٢ نمو وحفظ العزلة الفطرية *R. solani*

جرى تنمية الفطر الوسط الغذائي الصلب PSA وحضنت في درجة حرارة 25±1 م ولمدة ٤ ايام. وجرى تجديد العزلة كل اسبوعين داخل انابيب اختبار slant.

٣-٥-٣ تشخيص الفطر

شخصت عزلات الفطر *R. solani* اعتمادا على الصفات التي اوردها Parmeter و Whitney (١٩٧٠) و Ogoshi (١٩٨٧) التي تتضمن: لون المستعمرة الفطرية تفرع الغزل الفطري، هيئة الهايفات في منطقة التفرع.

٣-٥-٤ اختبار القدرة المرضية

اعتمدت طريقة Leiner and Carling (١٩٨٦) وذلك بزراعة بذور الطماطة المعقمة بهايبوكلوريد الصوديوم ٥٪ على اطباق بتري حاوية على وسط الاكار بمعدل ١٠بذرة/طبق بعد ان تم تلقيح مركز الطبق بقرص من مستعمرة الفطر *R. solani*، وكذلك تم عمل مقارنة بدون فطر بثلاثة مكررات لكل معاملة بعد ذلك حسبت نسبة الانبات بعد ستة ايام من الزراعة.

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

٣-٥-٥ دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر *R. solani*

٣-٥-٥-١ تأثير درجة الحرارة في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*

بعد أن حضر الوسط الزرعي PSA كما في الفقرة (٣-٣-١) صب في أطباق بتري معقمة قطرها 9cm.

لقح مركز كل طبق بقرص قطره 10mm أخذ من حافة المستعمرة الفطرية وبعمر ٤ أيام وبثلاثة مكررات وقد حضنت الاطباق في درجات حرارة مختلفة (١٥، ٢٠، ٢٥، ٣٠، ٣٥،٤٠) م° وتم قياس النمو القطري، بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة يمران بمركز القرص كل ٢٤ساعة ولمدة ٤ أيام وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة.

٣-٥-٥-٢ تأثير الاوساط الزرعية في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*

تم اختبار تأثير مكونات الوسط الزرعي في نمو الفطر *R. solani* باستعمال ثلاثة أوساط زرعية هي Potato Secrose Agar و Malt Extract Agar MCA و Sabowroud Agar SA.

ولقح مركز كل طبق بقرص قطره ١٠mm من مستعمرة الفطر حضنت بدرجة حرارة (25±1)م ولمدة ٤ أيام وبثلاثة مكررات لكل وسط، ثم أخذت القراءات كل ٢٤ساعة وذلك بقياس قطر المستعمرة وبشكل متعامد.

٣-٥-٥-٣ تأثير الرقم الهيدروجيني في النمو القطري لعزلة الفطر *R. solani*

تم اختبار تأثير أربع قيم من pH (٨,٧,٦,٥) في النمو القطري لـ *R. solani* باستعمال وسط PSA الذي صب في أطباق بتري قطرها ٩cm ولقح مركز كل طبق بقرص من مستعمرة حديثة للفطر قطره ١٠mm وبعمر أربعة أيام وبثلاثة مكررات. حضنت الاطباق بدرجة 25±1م ولمدة ٤ أيام وأخذت القراءات كل ٢٤ ساعة وذلك بقياس قطر المستعمرة بشكل متعامد.

٣-٥-٦ تأثير بعض المبيدات الفطرية في عدد من الجوانب الفسلجية للفطر *R. solani*

٣-٥-٦-١ النمو القطري للفطر *R. solani*

حضرت سلسلة من تراكيز المبيدات الفطرية الثلاثة تشيجازول ورايزولكس وبنليت لتقدير تأثيرها على نمو الفطر *R. solani*.

حضرت التخافيف الآتية من كل مبيد:

١.مبيد تشيجازول ٠.٠٣٣ , ٠.٠٦٦, ٠.١٣٣, ٠.٢٦٦ , ٠.٥٣٣ , ١.٠٦٦ , ٢.١٣٣, ٤.٥٥١ مل/لتر.

٢.مبيد رايزولكس ٠.٠٠٢ ,٠.٠٠٤, ٠.٠٠٨, ٠.٠١٦ , ٠.٠٣٠ , ٠.٠٥٠ , ٠.٠٦, غم/لتر.

٣.مبيد بنليت ٠.٠٠٣ ,٠.٠١, ٠.٠٢, ٠.٠٤ , ٠.٠٥ ,٠.٠٦, ٠.٠٨, ٠. ١ ,غم/لتر.

تم اضافة التراكيز الى الوسط الغذائي PSA المعقم قبل تصلبه ومُزج جيدا مع الوسط وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز. بعد تصلب الوسط تم نقل قرص قطره ١٠mm من المزرعة الفطرية لفطر *R. solani* وبعمر ٤ أيام باستعمال ثاقب فلين معقم، ووضع في مركز الطبق. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±1 م ولمدة ٤ أيام، بعدها تم قياس أقطار المستعمرة الفطرية وبشكل متعامد وحسبت نسبة التثبيط للمبيد باستعمال معادلة التثبيط معادلة Abbot (شعبان والملاح، ١٩٩٣)

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة} - \text{معدل نمو الفطر في المعاملة}}{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة}} \times 100\%$$

٣-٥-٦-٢ الوزن الجاف لعزلة الفطر *R. solani*

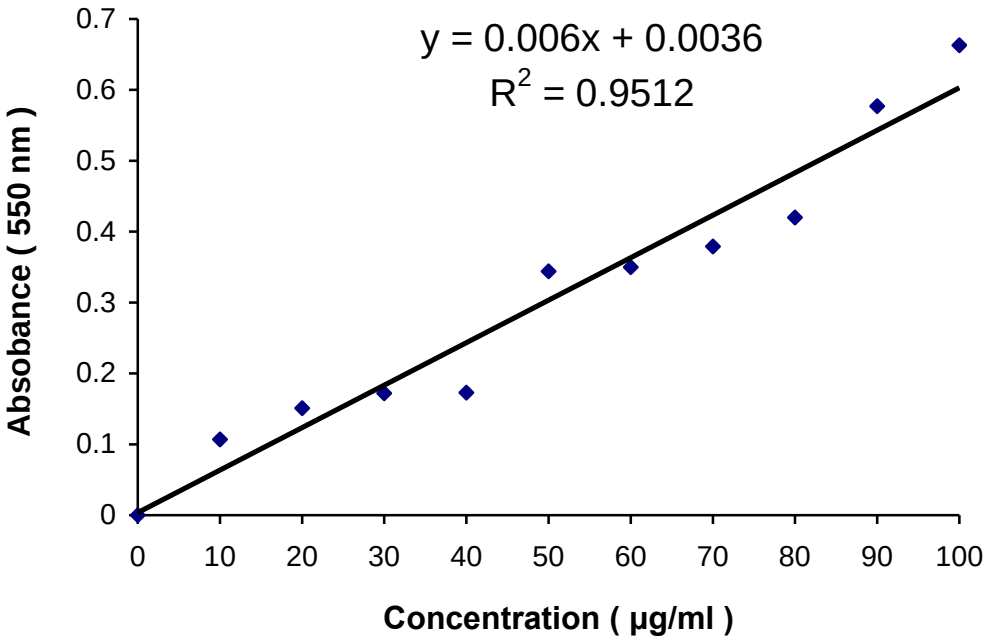
تم تهيئة تسعة دوارق مخروطية سعة ٢٥٠مل تحوي كل منها ٥٠ مل من الوسط الزرعي PS والمحضر وفقاً لما جاء في الفقرة (٣-٥-٦-١) أضيف لكل دورق تركيز واحد من تراكيز المبيد الثمانية المختبرة وترك دورق دون إضافة المبيد. لقح كل دورق بقرص قطرة mm ١٠ من المزرعة الحديثة لفطر *R. solani* وبعمر ٤ ايام وبثلاثة مكررات لكل تركيز. حضنت الدوارق بدرجة حرارة ٢٥ م ولمدة ١٠ ايام، وحسب الوزن الجاف للغزل الفطري ولمختلف التراكيز للمبيد. وبعد انتهاء مدة الحضن تم فصل العزل الفطري بأوراق الترشيح Whatman No. ١. جفف الغزل الفطري في فرن بدرجة حرارة ٦٠ م ولمدة ٢٤ ساعة. كررت التجربة اعلاه مع المبيدين رابزولكس وبنليت.

٣-٥-٦-٣ دراسة إنتاجية الإنزيم exoglucanase FPase لعزلة الفطر *R. solani*

A- تقدير السكريات المختزلة

المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز

لتقدير انزيم exoglucanase FPase استعمل الكلوكوز كمادة قياسية لتقدير السكريات المختزلة. إذ تم وزن gm ٠.١ كلوكوز وأذيب في ١٠٠ مل ماء مقطر كمحلول خزين وحضرت منه عدة تراكيز (١٠, ٢٠, ٣٠, ٤٠, ٥٠, ٦٠, ٧٠, ٨٠, ٩٠, ١٠٠) مايكروغرام لكل مل وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز. وضع ١ مل من كل تخفيف في انابيب اختبار نظيفة ثم أضيف إليها ١ مل من محلول النحاس Somogyi سخن فيما بعد المزيج لدرجة الغليان لمدة ١٠ دقائق وبعدها بُرد تبريداً سريعاً. أضيف لمزيج التفاعل ٢ مل من محلول Nelson ومزجت المحتويات بوساطة هزاز ثم تركت لمدة نصف ساعة، فصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة xg ٤٠٠٠، قيست الامتصاصية عند طول موجي nm ٥٠٠.اذ جرى اولاً تحديد المنحني القياسي لسكر الكلوكوز ليتم الاستفاده منه في تقدير السكريات المختزله.



شكل (٣) المنحنى القياسي لسكر الكلوكوز

B- تقدير البروتينات الكلية Protein Determination

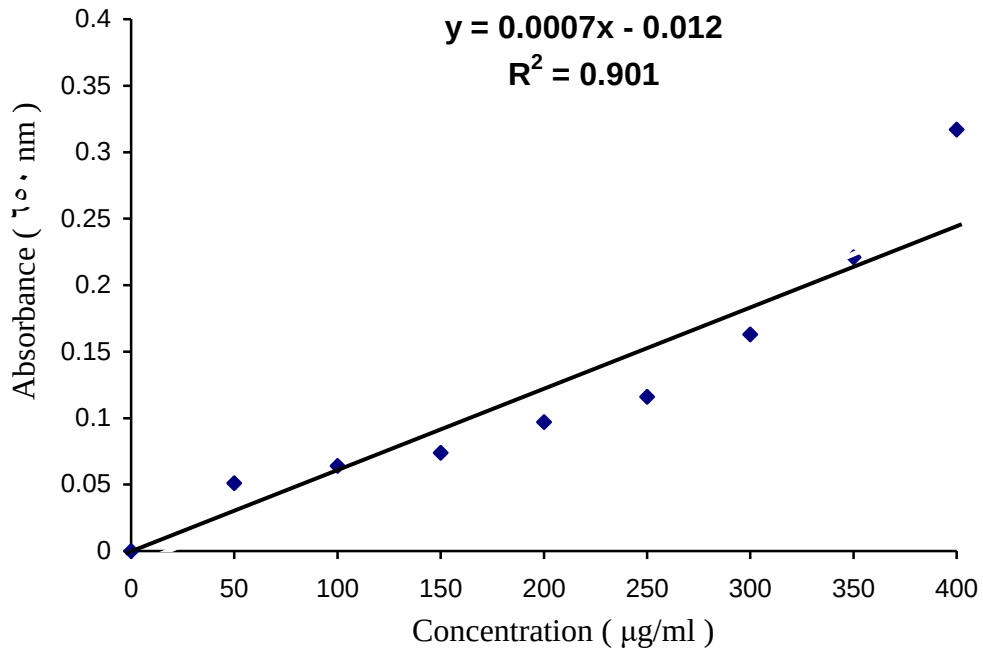
تم تقدير البروتينات بطريقة Lowry المحورة (١٩٥١)وبالاعتماد على المنحني القياسي لبروتين الألبومين البقري

المنحنى القياسي لبروتين الالبومين البقري

استعمل بروتين الالبومين البقري القياسي لتقدير تركيز البروتينات في المحاليل، وحضر المحلول الخزين بإذابة ٠.١ غم من بروتين الالبومين البقري في ١٠٠ مل من NaOHتركيزه ٠.٧٢ بعد ذلك حضرت سلسلة من التراكيز من المحلول الخزين

(٠, ٥٠, ١٠٠, ١٥٠, ٢٠٠, ٢٥٠, ٣٠٠, ٣٥٠, ٤٠٠) مايكروغرام/مل

اضيف لكل ١ مل من التراكيز السابقة ١ مل من كاشف النحاس القاعدي مع المزج الجيد بالمازج وترك لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة واضيف له ٤ مل من كاشف الفولن-سيتاكاليتو بتركيز واحد عياري N(١). ووضع في الحمام المائي بدرجة حرارة ٥٥ م ولمدة ٥ دقائق. ثم برد الى درجة حرارة الغرفة قيست له الامتصاصية في المنطقة المرئية على طول موجي ٦٥٠ nm.



شكل (٤) المنحنى القياسي للألبومين البقري

C- مدة الحضن

حضر الوسط psوأضيف إليه أوراق الترشيح Filterpaper وضبط الرقم الهيدروجيني ٦ ثم حضن بدرجة حرارة ٣٠ مْ لمدة سبعة أيام وبعدها تم تلقيح الوسط بثلاثة أقراص قطرها ١٠ ملم من مستعمرة الفطر *R. solani*.

ولمتابعة فعالية الانزيم Exoglucanase تم سحب عينة من المزرعة الفطرية مقدارها ١٠ مل لتقدير الفعالية الانزيمية والبروتين وبوساطة ماصة معقمة ولكل ٢٤ ساعة ولغاية نهاية مدة الحضن.

بعد السحب فصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة مقدارها ٤٠٠٠ xg لمدة ١٠ دقائق.

٣-٥-٧ تقدير الفعالية الإنزيمية لانزيم Exoglucanase FPase

تم تقدير الفعالية الانزيمية باستعمال طريقة (١٩٧٦) Mandles *et al.* المحورة وذلك بقياس السكريات المختزلة بطريقة Somogyi-Nelson (١٩٥٢ ,Somogyi-Nelson) كما يلي: اضيف ١ مل من الراشح الانزيمي الى ١ مل من المحلول المنظم acetate buffer، رقمه الهيدروجيني ٥.٢. بعد ذلك اضيفت الركيزة substrat وهي ٥٠ ملغم من ورق الترشيح Whatman No.١، في انابيب اختبار ذات غطاء محكم، حضنت بدرجة ٥٠ م لمدة ساعتين. تم حساب السكريات المختزلة بطريقة Somogyi-Nelson (١٩٥٢) وذلك باضافة ١ مل من محلول النحاس الى الانابيب السابقة سخنت بالحمام المائي لدرجة الغليان لمدة ١٠ دقائق ثم بردت تبريداً سريعاً. اضيف اليها ٢ مل من محلول Nelson.

خلطت المحتويات بوساطة هزاز. تركت مدة نصف ساعة استعمل جهاز الطرد المركب بسرعة (٤٠٠٠ xg) لفصل الراشح وقيست الامتصاصية بطول موجي ٥٠٠ nm بعد ان تم تصفير الجهاز باستعمال المحلول Blank.

٣-٦ تأثير تداخل بعض العوامل البيئية مع مبيد تشجازول في انتاجية انزيم Exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*

٣-٦-١ تاثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد تشجازول في انتاجية انزيم Exoglucanase FPase والبروتين

تم تحضير ١٢ دورق سعة كل واحد ٢٥٠ مل يحتوي ٥٠ مل وسط زرعي PS حاوي على المصدر الكاربوني Filterpaper. إذ تم حضن هذه الدوارق لمدة ٧٢ ساعة وبرقم هيدروجيني ٦. قسمت هذه الدوارق إلى ثلاثة مجاميع. وكل مجموعة تحتوي ٤ دوارق.

أ- معاملة المقارنة: حضرت أربعة دوارق وبدرجات حرارية مختلفة (٢٠ ,٢٥ ,٣٠ ,٣٥) مْ دون إضافة مبيد.

ب- معاملة مبيد التشجازول ٠.٢٦ مل/لتر: إذ تم إضافة مبيد التشجازول بتركيز ٠.٢٦ مل/لتر لأربعة دوارق وحسب الدرجة الحرارية المراد دراستها.

ج- معاملة مبيد التشجازول ٠.٥٣ مل/لتر: إذ تم إضافة مبيد التشجازول بتركيز ٠.٥٣ مل/لتر وحسب الدرجة الحرارية المراد دراستها.

لقح الوسط بثلاثة أقراص من المستعمرة الفطرية لفطر *R. solani* قطرها ١٠ ملم بعمر ٤ أيام وحضن الوسط بدرجات حرارية مختلفة ٢٠، ٢٥، ٣٠، ٣٥ م. ولمدة ٧٢ ساعة بعد انتهاء مدة الحضن تم سحب ٦ مل من المستخلص الزرعي وذلك لغرض متابعة الفعالية الانزيمية المحللة للسليلوز وبثلاثة مكررات.

٣-٦-٢ تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد التشيجازول في انتاجية انزيم exoglucanase FPase والبروتين

تم تهيئة ١٢ دورق حجم ٢٥٠ يحتوي كل دورق ٥٠ مل من الوسط PS الحاوي على مصدر الكاربون Filterpaper، ثم قسمت هذه الدوارق إلى ثلاثة مجاميع كل مجموعة تضم أربعة دوارق وعملت كالآتي:

أ- معاملة المقارنة: تركت أربعة دوارق وبدرجات حموضة مختلفة (٥، ٦، ٧،٨) دون إضافة مبيد التشجازول.

ب- معاملة مبيد التشجازول ٠.٢٦ مل/لتر: إذ تم إضافة مبيد التشجازول بتركيز ٠.٢٦ مل/لتر لأربعة دوارق وحسب الرقم الهيدروجيني المراد دراسته.

ج- معاملة مبيد التشجازول ٠.٥٣ مل/لتر: إذ تم إضافة مبيد التشجازول لأربعة دوارق وبتركيز ٠.٥٣ مل/لتر وحسب الرقم الهيدروجيني المراد دراسته.

لقحت جميع الدوارق بأقراص قطر كل منها ١٠ ملم من حافة مستعمرة فطر *R. solani* بعد انتهاء مدة الحضن سحب المستخلص الانزيمي وفصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي ٤٠٠٠ xg ولمدة ١٠ دقائق بعدها تم قياس الفعالية الانزيمية للمستخلص الانزيمي.

٣-٦-٣ تأثير التداخل بين ظروف التهوية ومبيد تشجازول في انتاجية انزيم exoglucanase FPase والبروتين

تم تهيئة ستة دوارق حجم ٢٥٠ مل تحتوي على وسط PS بمقدار ٥٠ مل مضاف إليه المصدر الكاربوني بعدها تم معاملة دورقين بمبيد التشجازول بتركيز ٠.٢٦ مل/لتر وكذلك عومل دورقين آخرين بمبيد التشجازول بتركيز ٠.٠٥٣ مل/لتر، أما الدورقين الآخرين فقد كانا من دون إضافة المبيد.

لقحت جميع الدوارق بأقراص من الفطر *R. solani* وبقطر ١٠ ملم وبمعدل قرص واد لكل دورق ثم حضنت ثلاثة دوارق وبمعدل دورق لكل معاملة تحت ظروف تحريك بسرعة ١٢٠ دورق/دقيقة والثلاثة الآخرين بدون تحريك، وبدرجة حرارة ٣٠ م لمدة ٧٢ ساعة بعدها تم قياس الفعالية الإنزيمية.

٣-٧ التحليل الإحصائي

حللت تجارب الدراسة وفق نموذج التجارب العاملية بتصميم تام التعشية Factorial experiments with completely randomized design في حين حللت تجارب الوزن الجاف للفطر بتصميم تام التعشية completely randomized design (CRD). وقد تم استعمال اختبار اقل فرقاً معنوياً Least Significant Difference (LSD) تحت مستوى معنوية ٠.٠٥ لبيان معنوية النتائج (الراوي وخلف الله، ٢٠٠٠).

الفصل الرابع

النتائج

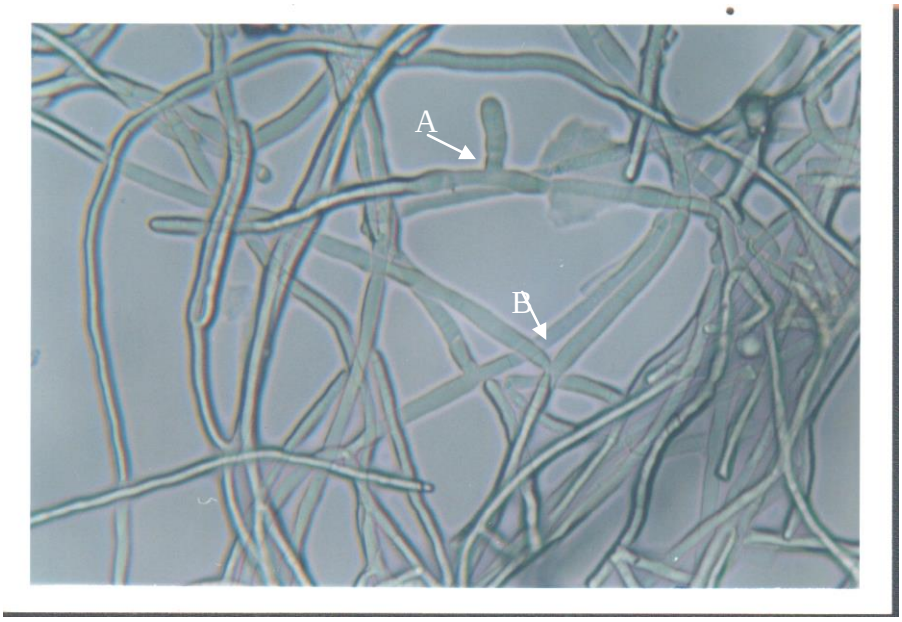
Results

٤-١ تشخيص فطر *R. solani* واختبار القدرة الامراضية

أكد تشخيص فطر *R. solani* اعتماداً على الصفات المظهرية والمجهرية، إذ تميزت المستعمرات الفطرية بلون شاحب إلى بني مع تقادم النمو. الغزل الفطري متفرع بشكل زاوية قائمة، يحتوي على تخصرات عند منطقة نشوء الفرع، الخلايا برميلية الشكل بهيئة سلاسل (Parmeter and Whitney, ١٩٧٠; Ogoshi, ١٩٨٧) شكل (٥).

أما اختبار القدرة الامراضية لعزلة الفطر *R. solani* من حيث النسبة المئوية لإنبات البذور وطبيعة تأثيرها على العائل (نمو السويقة الجنينية السفلى والجذير ومدى نمو البادرات وتطورها). فكانت النسبة المئوية للإنبات ٣٠٪ أما تأثيرها على العائل فقد كانت البادرات ذات جذير وسويقة جنينية قصيرين وذا تطور ضعيف جداً.

(أ)



(ب)

شكل (٥) مظهر مستعمرة فطرية للفطر *R. solani* النامي في وسط PSA رقمه الهيدروجيني ٦ درجة حرارة 25∓1 والحضن لمدة أربعة أيام والفحص المجهري لغزلها الفطري

(أ) المستعمرة الفطرية

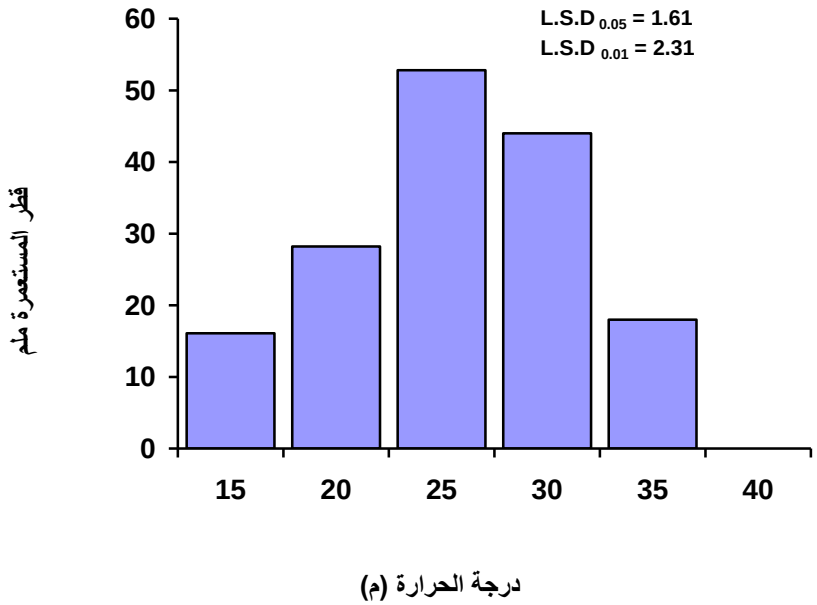
(ب) الغزل الفطري ٤٠٠x

A : تفرع الغزل الفطري بشكل زاوية قائمة ، B : تخصر الغزل الفطري عند منطقة نشوء الفرع

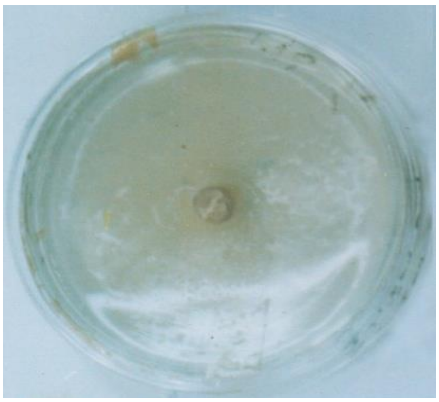
٤-٢ دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر *R. solani*

٤-٢-١ تأثير درجة الحرارة في نمو الفطر *R. solani*

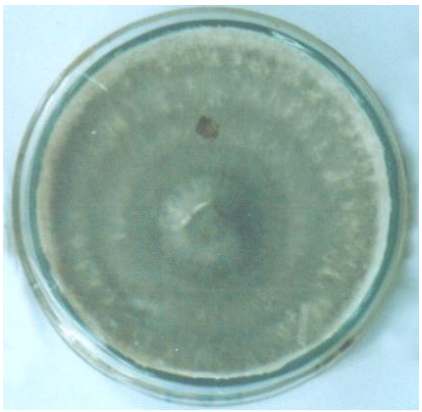
أظهرت نتائج التجربة شكل (٦) وجود تأثير معنوي في مستوى ٠.٠١ لدرجات الحرارة ١٥ ,٢٠ ,٢٥ ,٣٠ ,٣٥ ,٤٠ م وفي نمو الفطر *R. solani*. وقد وصل أعلى نمو للفطر عند درجة حرارة ٢٥ م التي كانت بمثابة الحرارة المثلى للنمو شكل (٧). كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في نمو الفطر بين درجة حرارة ٢٥ و٣٠. كما بينت النتائج انخفاض مستوى النمو في درجة حرارة ١٥ ,٢٠ ,٣٥ م مقارنة بمستوى النمو عند درجة حرارة ٢٥ م، على الرغم من وجود الفروقات المعنوية على مستوى معنوية ٠.٠١ بين هاتين الدرجتين ٢٥ و٣٠ والدرجات الأخرى ولاسيما درجة حرارة ٤٠ م التي ثبطت النمو بصورة تامة.



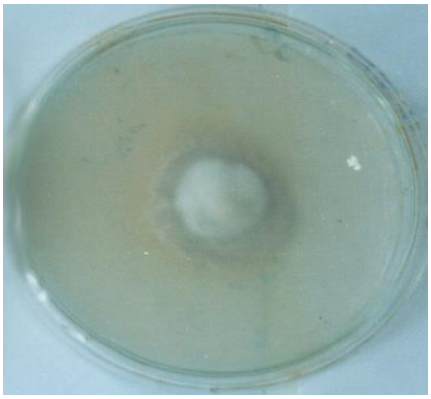
شكل (٦) تأثير درجة الحرارة في النمو القطري للفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ ولمدة أربعة أيام ، بمعدل ثلاثة مكررات



(أ)



(ب)



(ج)

شكل (٧) تأثير درجات الحرارة (أ. ١٥ م ب. ٢٥ م ج. ٣٥ م) في نمو الفطر *R. solani* النامي في وسط PSA رقمه الهيدروجيني ٦ والحضن لمدة أربعة أيام

٤-٢-٢ تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

بينت نتائج هذا الاختبار زيادة النمو للفطر بزيادة درجة الحرارة إذ كان النمو بدرجة حرارة ١٥ مْ لليوم الرابع ٢٠ ملم وباستمرار الزيادة بدرجات الحرارة نلاحظ أن النمو وصل إلى أعلى قيمة بدرجة الحرارة المثلى وهي ٢٥ مْ إذ كان قطر المستعمرة لليوم الرابع ٨٦ ملم، ولكن بزيادة درجة الحرارة عن هذه الدرجة نلاحظ أن النمو بدء بالانخفاض وصولاً إلى تثبيط كامل للنمو بدرجة حرارة ٤٠ مْ لليوم الرابع.

وكذلك قد وضح هذا الجدول أن النمو يزداد بزيادة فترة الحضن وهذا واضح في جميع درجات الحرارة المدروسة إذ إنه في اليوم الدرجة حرارة ٣٠ مْ مثلاً كان ١٥ ملم ولكن باستمرار الحضن نلاحظ أن قطر المستعمرة قد وصل إلى ٨٠ ملم جدول (١).

جدول (١) تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA، رقمه الهيدروجيني ٦، لمدة أربعة أيام بمعدل ثلاثة مكررات

درجة الحرارة (م)	قطر المستعمرة (ملم)			
	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع
١٥	١٢.٠	١٥.٠	١٧.٥	٢٠
٢٠	١٥.٠	١٨.٢	٢٧.٦	٥٢.٠
٢٥	٢٣.٦	٤٠.٦	٦١.٢	٨٦.٠
٣٠	١٥.٠	٢٤.٦	٥٦.١	٨٠.٣

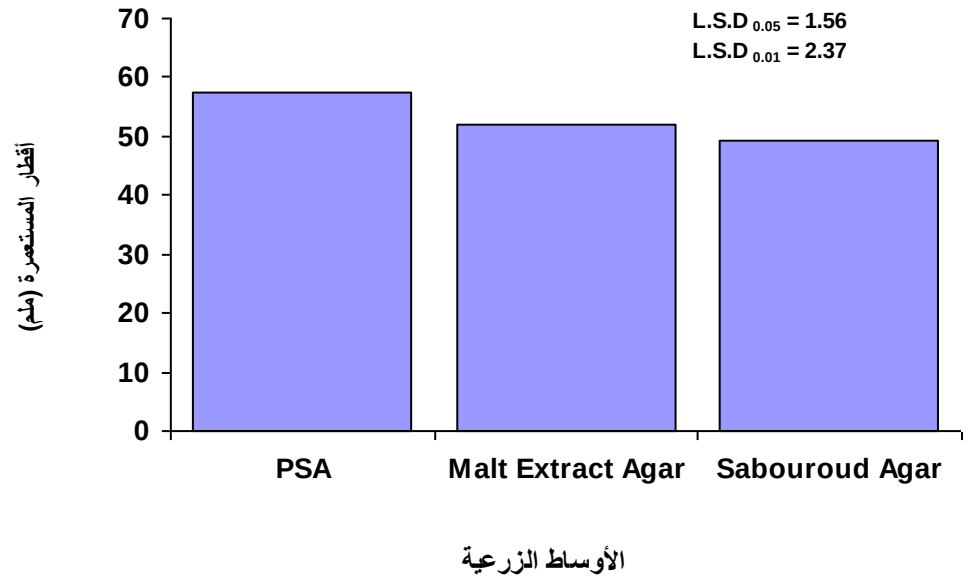
٢٥.٣	١٩.٥	١٥.٣	١٢.٠	٣٥
٠	٠	٠	٠	٤٠

قيمة (L.S.D) عند مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت ٣.٢٢.

قيمة (L.S.D) عند مستوى معنوية ٠.٠١ كانت ٤.٦٢.

٤-٢-٣ تأثير نوع الأوساط الزرعية في نمو الفطر *R. solani*

يتباين مستوى نمو الفطر باختلاف الوسط الزرعي الذي ينمو عليه شكل (٨) فقد بينت النتائج وجود فروق معنوية على مستوى معنوية ٠.٠١ في معدلات نمو الفطر بين الأوساط الزرعية المستعملة إذ ارتفع مستوى نمو الفطر *R. solani* في وسط PSA إلى ٥٧.٤ ملم يليه وسط Malt Extract Agar ٥٢ ملم ثم وسطSaburoud Agar إذ بلغ قطر المستعمرة ٤٩.٢ ملم، وقد أظهر الوسط Malt Extract Agar والوسط Saburoud Agar فرقاً معنوياً ضئيلاً مقارنة بوسط PSA على مستوى معنوية ٠.٠٥ و ٠.٠١.



شكل (٨) تأثير نوع الوسط الزرعي في نمو الفطر *R. solani* عند الرقم الهيدروجيني ٦ وبدرجة حرارة 25∓1 والحضن لمدة أربعة أيام، وبمعدل ثلاثة مكررات

٤-٢-٤ تأثير التداخل بين نوع الوسط الزرعي ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

يوضح الجدول (٢) تأثير التداخل بين نوع الوسط الزرعي ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* إذ عدم وجود فرق معنوي. ويظهر من النتائج ان الفطر له القابلية على النمو في الأوساط الزرعية الثلاثة وبشكل متقارب خلال مدد الحضن المختلفة.

جدول (٢) تأثير التداخل بين نوع الوسط ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* عند درجة الحرارة 25∓1، ورقم هيدروجيني ٦ وبمعدل ثلاثة مكررات

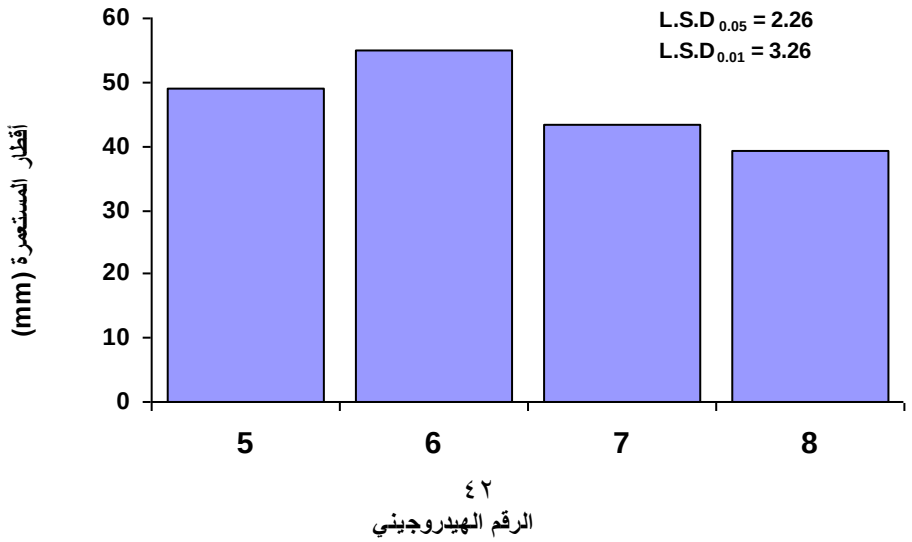
نوع الوسط	قطر المستعمرة (ملم)			
	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع
PSA	٣٠.٦	٤٩.٠	٦٣.٣	٨٦.٦
Malt extract agar	٢٤.٦	٤٢.٠	٥٩.٣	٨٢.٣
Sabowroud agar	٢٢.٠	٣٩.٣	٥٥.٠	٨٠.٦

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت غير معنوية (N.S) Non-significant

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ كانت غير معنوية Non-significant

٤-٢-٥ تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani*

يوضح الشكل (٩) تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani* وأظهرت النتائج فروقاً معنوية في نمو الفطر بين قيم الرقم الهيدروجيني. إذ بلغ قطر المستعمرة الفطرية عند الرقم الهيدروجيني ٦ حوالي ٥٠.٤٩ ملم وهي افضل رقم هيدروجيني لنمو الفطر، تلاه الرقم الهيدروجيني ٥ إذ كان قطر المستعمرة ٤٠.٤ ملم.



شكل (٩) تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA درجة الحرارة 25 ∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

٤-٢-٦ تأثير التداخل بين الأرقام الهيدروجينية ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

يبين الجدول (٣) تأثير التداخل بين الأرقام الهيدروجينية ومدة الحضن، إذ أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية في نمو الفطر بين وسط PAS ذو الرقم الهيدروجيني (٥) والوسط نفسه ذو رقم هيدروجيني ٦ إذ بلغ معدل قطر المستعمرات ٨٠.٣ و٨٦.٣ ملم على التوالي بعد مدة حضن أربعة أيام، ولايوجد فرق إحصائي في معدل قطر المستعمرات النامية في الأوساط ذات رقم هيدروجيني ٧ و٨ في الوقت الذي أظهرت النتائج وجود فروقات إحصائية في النمو بين الأوساط ذات رقم هيدروجيني ٥ و٦ من جهة و٧ و٨ من جهة أخرى وخلال جميع فترات الحضن.

جدول (٣) التداخل بين الأرقام الهيدروجينية ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي على الوسط الزرعي PSA بدرجة الحرارة 25 ∓1 وبمعدل ثلاثة مكررات

الرقم الهيدروجيني	قطر المستعمرة (ملم)			
	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع
٥	١٩.٦	٣٨.٠	٥٨.٣	٨٠.٣
٦	٢٥.٠	٤٥.٠	٦٣.٣	٨٦.٣
٧	١٩.٠	٣٢.٠	٥٠.٣	٧٣.٠
٨	١٥.٠	٢٨.٦	٤٥.٦	٦٧.٦

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت ٤.٥٣

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ كانت ٦.٥٠

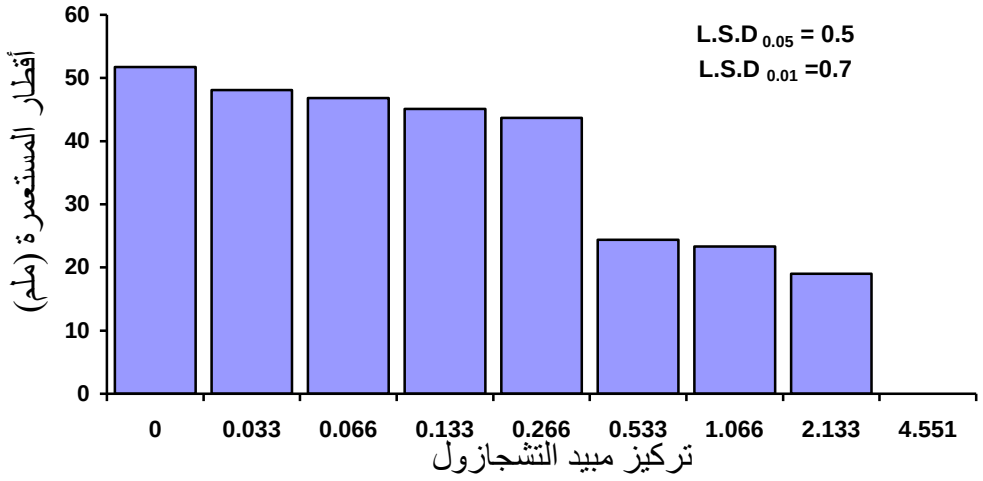
٤-٣ دراسة كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *R. solani*

٤-٣-١ اختبار كفاءة مبيد تشجازول المضاد لنمو الفطر *R. solani*

بينت نتائج هذه التجربة الشكل (١٠) إن مبيد تشجازول بتركيز ٤.٥٥ مل/لتر في نمو الفطر *R. solani* النامي في PSA قد سبب تثبيطاً كلياً للنمو إذ بلغت النسبة المئوية للتسمم الشعاعي ١٠٠%. أما النسبة المئوية للتسمم الشعاعي عند استعمال تراكيز ٠.٢٦ – ٢.١٣ مل/لتر تراوحت بين ٣٣.٣٪ - ٥٩.٥٢٪. كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في معدلات نمو الفطر بين التراكيز المستعملة لاسيما بعد التركيز ١.٠٦ مل/لتر.

جدول (٤) النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *R. solani* بمبيد التشجازول في الوسط الزرعي PSA برقم هيدروجيني ٦ و درجة الحرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تركيز المبيد مل/لتر	نسبة التثبيط (%)
٠.٠٣٣	٣.٣٣
٠.٠٦٦	٥.٤٣
٠.١٣	٨.٨٠
٠.٢٦	١٤
٠.٥٣	٥٣.١٦
١.٠٦	٥٨.٨٠
٢.١٣	٥٩.٥٢
٤.٥٥	١٠٠



شكل (١٠) تأثير مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ وبدرجة الحرارة 25 ∓ 1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

٤-٣-٢ اختبار تأثير التداخل بين مدة الحضن وتركيز مبيد التشجازول في نمو الفطر *R. solani*

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي التداخل بين تراكيز المبيد ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* أن تركيز ٤.٥٥ مل/لتر أحدثت تثبيطاً كاملاً لنمو الفطر وبجميع مدد الحضن إذ بلغ معدل قطر المستعمرات صفراً، أما التراكيز ٠.٠٣٣ و٠.٠٦٦ و٠.١٣ و٠.٢٦ فلم تظهر فروقات في النمو خلال مدد الحضن المختلفة في الوقت التي أظهرت التراكيز ٠.٥٣ و١.٠٦ و٢.١٣ و٤.٥٥ خفضاً معنوياً في نمو الفطر بعد مرور يومان على حضن المعاملات واستمر التأثير السمي لهذه التراكيز طيلة مدة الحضن وبلغ أقصاه في اليوم الرابع إذ بلغ معدل أقطار المستعمرات ٣٧.٣ و٣٥.٦ و٢٧.٣ و٠ على التوالي جدول (٥).

جدول (٥) تأثير التداخل بين تراكيز مبيد تشجازول ومدة الحضن في نسبة تثبيط الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA درجة الحرارة 25 ∓ 1 الرقم الهيدروجيني ٦ ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

التركيز (مل/لتر)	قطر المستعمرة (ملم)			
	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع
٠	١٨.٠	٤٢.٠	٦٦.٠	٨١.٠
٠.٠٣٣	١٦.٦	٤٠.٠	٥٧.٥	٧٨.٣
٠.٠٦٦	١٦.٣	٣٩.٣	٥٥.٠	٧٦.٦
٠.١٣	١٥.٦	٣٨.٣	٥٣.٣	٧٣.٣
٠.٢٦	١٥.٣	٣٧.٨	٥٢.٥	٦٩.٣
٠.٥٣	١٢.٠	١٩.٦	٢٨.٦	٣٧.٣
١.٠٦	١٢.٠	١٨.٠	٢٧.٦	٣٥.٦
٢.١٣	١٢.٠	١٧.٠	٢٠.٠	٢٧.٣
٤.٥٥	٠	٠	٠	٠

قيمة (L.S.D) على مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت ١٢.١٢

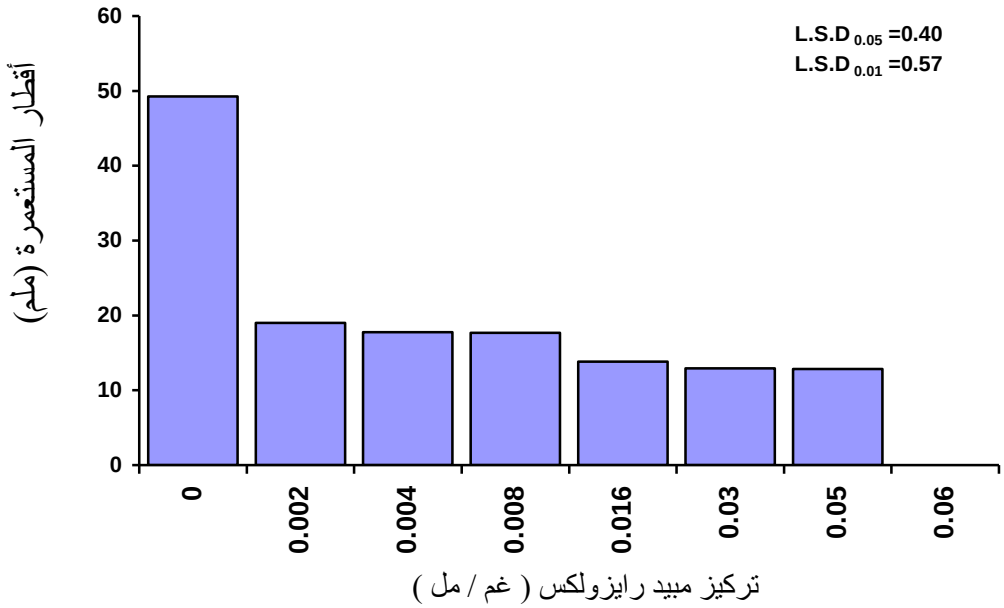
قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ كانت ١٧.٢٤

٤-٣-٣ اختبار كفاءة مبيد رايزولكس في تثبيط نمو الفطر *R. solani*

كان لتراكيز مبيد الرايزولكس تأثيرات سميه شديدة على الفطر *R. solani* ولجميع التراكيز المختبرة وكان أشد التراكيز تأثير اً تركيز ٠.٠٦ غم/لتر إذ بلغت نسبة التثبيط ١٠٠٪ وتساوي تقريباً التركيزين ٠.٠٥ و٠.٠٣ غم/لتر في التأثير على نمو الفطر إذ بلغت نسبة التثبيط ٨٣.٣٪ و٨٣٪ على التوالي جدول (٦). وظهر لنا من خلالها ان هناك فرقاً معنوياً عالياً مابين معاملة السيطرة والتركيز ٠.٠٠٢غم/لتر في حين لم يظهر فرق معنوي مابين التراكيز ٠.٠٠٤ و ٠.٠٥ غم/لتر وكما في شكل (١١).

جدول (٦) النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *R. solani* بمبيد الرايزولكس في الوسط الزرعي PSA برقم هيدروجيني ٦ و درجة الحرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تركيز المبيد (غم/لتر)	نسبة التثبيط (%)
٠.٠٠٢	٧٠
٠.٠٠٤	٧١.٧
٠.٠٠٨	٧١.٧
٠.٠١٦	٨٠
٠.٠٣	٨٣
٠.٠٥	٨٣.٣
٠.٠٦	١٠٠



شكل (١١) تأثير مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ درجة الحرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

٤-٣-٤ تأثير التداخل بين تراكيز مبيد الرايزولكس ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

أثرت جميع التراكيز المختبرة سلباً في نمو الفطر *R. solani* مقارنه بمعاملة السيطرة وخلال مدد الحضن المختلفة، وأظهرت التراكيز ٠.٠١٦ و٠.٠٣ و٠.٠٥ و٠.٠٦ غم/لتر فعالية أعلى في تثبيط النمو بالمقارنة مع بقية التراكيز الأخرى ومتساوية تقريباً في تأثيرها خلال مدة الحضن للأيام الثلاثة الأولى ولكنها اختلفت فيما بينها في اليوم الرابع إذ بلغ معدل قطر المستعمرات للفطر ١٧ و١٤.٦٦ و١٤.٣٣ ملم على التوالي.

أما التراكيز ٠.٠٠٢ و٠.٠٠٤ و٠.٠٠٨غم/لتر فإنها أثرت بصورة متساوية تقريباً خلال اليومين الأولين من الحضن ولكنها اختلفت فيما بينها في التأثير في اليومين الثالث والرابع من الحضن جدول (٧).

جدول (٧) تأثير التداخل مابين تراكيز مبيد رايزولكس ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ درجة الحرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

التركيز (ملغم/مل)	قطر المستعمرة (ملم)

اليوم الرابع	اليوم الثالث	اليوم الثاني	اليوم الاول	١٠$^{-٤}$×١
٨٦.٠	٦٢.٣٣	٣٥.٠٠	١٣.٦٦	٠
٢٥.٦٦	٢٣.٠٠	١٥.٣٣	١٢.٠	٠.٠٠٢
٢٤.٣٣	٢٠.٠٠	١٥.٦٦	١٢.٠	٠.٠٠٤
٢٤.٣٣	١٩.٣٣	١٥.٠٠	١٢.٠	٠.٠٠٨
١٧.٠٠	١٣.٦٦	١٢.٦٦	١٢.٠	٠.٠١٦
١٤.٦٦	١٣.٠٠	١٢.٠	١٢.٠	٠.٠٣
١٤.٣٣	١٣.٠٠	١٢.٠	١٢.٠	٠.٠٥
٠	٠	٠	٠	٠.٠٦

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت ٠.٨

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ كانت ١.١٥

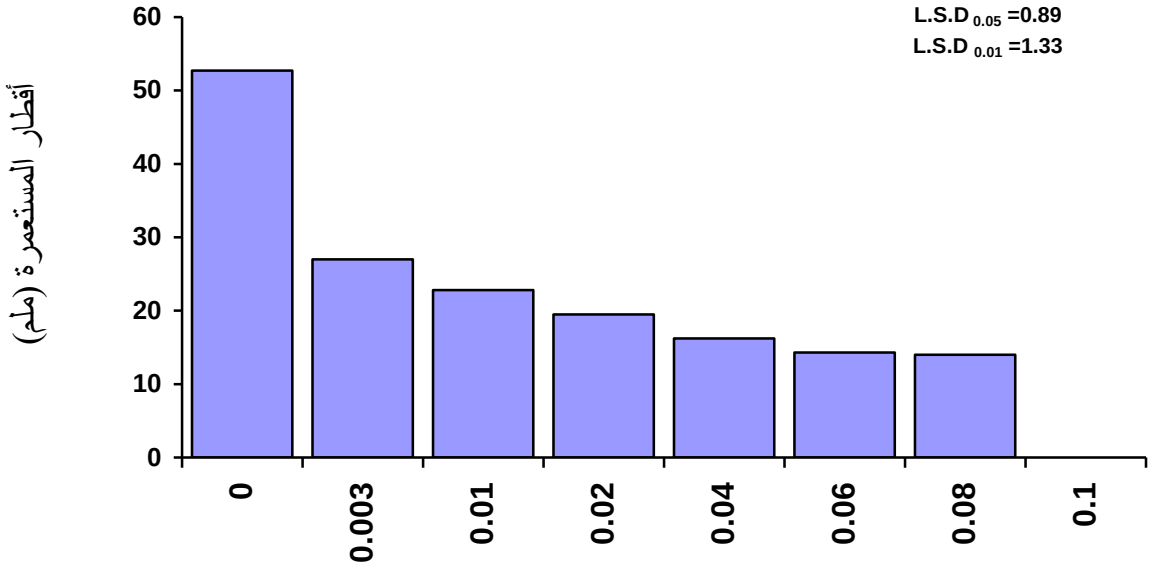
٤-٣-٥ اختبار كفاءة مبيد بنليت في نمو الفطر *R. solani*

أظهرت نتائج اختبار كفاءة مبيد بنليت حصول تثبيط بنسبة ١٠٠% للنمو القطري للفطر *R. solani* عند تركيز ٠.١ غم/لتر ، كما ظهر فرق معنوي بين المعاملات إذ بلغ قطر المستعمرة الفطرية ٥٢.٧ ملم في معاملة السيطرة في حين كان معدل النمو ١٧ ملم باستعمال تركيز ٠.٠٠٣ غم/لتر. في حين لم يظهر فرق معنوي عند مقارنة تركيز ٠.٠٦غم/لتر وتركيز ٠.٠٨ غم/لتر كما في الشكل (١٢).

جدول (٨) نسب التثبيط لمبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ عند درجة حرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تركيز المبيد (غم/لتر)	نسبة التثبيط (%)
٠.٠٠٣	٥٧.٧
٠.٠١	٦٥.١
٠.٠٢	٧٢.٥
٠.٠٤	٧٦

٠.٠٦	٨٠.٦
٠.٠٨	٨١.٣
٠.١	١٠٠



شكل (١٢) تأثير مبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ عند درجة حرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

٤-٣-٦ تأثير التداخل مابين تراكيز مبيد البنليت ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

أظهر التحليل الإحصائي لبيانات التداخل مابين تراكيز مبيد البنليت ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* وجود فروق معنوية. فعند مقارنة معدلات النمو في معاملة السيطرة مع مثيلاتها المعاملة بمبيد البنليت نلاحظ وجود اختلافات معنوية. وكذلك فإن معدلات نمو الفطر قد اختلفت معنوياً في التراكيز الخمسة الأولى طيلة مدة التجربة مقارنة بالتراكيز ٠.٠١ ,٠.٠٢ , غم/لتر إذ لم يظهرا أية فروقات معنوية إلا في اليوم الثالث والرابع من الحضن في حين حصل تثبيط كامل لنمو الفطر باستعمال التركيز ٠.١ غم/لتر.

جدول (٩) تأثير التداخل بين تراكيز مبيد البنليت ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani* النامي في الوسط الزرعي PSA رقمه الهيدروجيني ٦ ودرجة الحرارة 25∓1 ولمدة أربعة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

التركيز (غم/لتر)	قطر المستعمرة (ملم)

	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع
٠	٢٣.٣	٣٩.٣	٦٢.٠	٨٦.٣
٠.٠٠٣	٢٠.٠	٢٢.٦	٢٩.٠	٣٦.٣
٠.٠١	١٣.٦	٢٠.٣	٢٧.٣	٣٠.٠
٠.٠٢	١٣.٣	١٩.٣	٢٢.٠	٢٣.٦
٠.٠٤	١٢.٠	١٤.٣	١٨.٣	٢٠.٣
٠.٠٦	١٢.٠	١٣.٣	١٥.٣	١٦.٦
٠.٠٨	١٢.٠	١٣.٠	١٥.٣	١٦.٠
٠.١	٠	٠	٠	٠

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ كانت ١.٧٩

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ كانت ٢.٦٧

٤-٣-٧ اختبار كفاءة المبيدات الفطرية في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف

٤-٣-٧-١ تأثير مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف

أظهرت نتائج جدول (١٠) وجود فروق معنوية على مستوى معنوية ٠.٠١ و ٠.٠٥ بين السيطرة وتلك المعاملة بالمبيد التشجازول وإن الوزن الجاف لعزلة الفطر النامية في الوسط السائل PSL رقمه الهيدروجيني ٦ بدرجة حضن 25 ∓1 م ولمدة ١٠ أيام للسيطرة كان ٠.٥٣ ملغم مقارنة مع مثيله المعامل بتراكيز المبيد الذي سبب انخفاض في الوزن الجاف يتراوح مابين ٢٠%-٨٠٪. وعند إيجاد الفرق المعنوي ما بين معاملة السيطرة وباقي التراكيز ظهر عدم وجود فروق معنوية واضحة مع تركيز ٠.٢٦ مل/لتر وتركيز ٠.٥٣ مل/لتر في حين الفرق المعنوي ظهر من تركيز ٠.٢٦ مل/لتر وصعودا بالتراكيز الى ان يصبح الفرق المعنوي عالياً جداً عند تركيز ٢.١٣ مل/لتر.

جدول (١٠) تأثير تراكيز مبيد تشجازول في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في وسط PSL رقمه الهيدروجيني ٦ درجة الحرارة 25 ∓1 مدة الحضن عشرة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تركيز المبيد (مل/لتر)	الوزن الجاف (ملغم)
٠	٠.٥٣
٠.٠٣٣	٠.٤٦
٠.٠٦٦	٠.٤١
٠.١٣	٠.٣
٠.٢٦	٠.٢
٠.٥٣	٠.١٨
١.٠٦	٠.١٣
٢.١٣	٠.٠٣
٤.٥٥	٠.٠١

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ في تأثير تراكيز مبيد تشجازول في الوزن الجاف = ٠.٢٠

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ في تأثير تراكيز مبيد تشجازول في الوزن الجاف = ٠.١٣

٤-٣-٧-٢ تأثير تراكيز مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف

يوضح لنا جدول (١١) وجود فروقات معنوية على مستوى ٠.٠١ و٠.٠٥ في الوزن الجاف بين معاملة السيطرة ٠.٤٣ ملغم ولجميع معاملات المبيد. إذ تراوحت نسبة التثبيط للوزن الجاف ما بين ٢٣%-٣٤٪ قياساً بمعاملة المقارنة. في حين معاملات تراكيز المبيد لم يظهر فيما بينها أي فرق معنوي.

جدول (١١) تأثير تراكيز مبيد رايزولكس في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في الوسط PS رقمه الهيدروجيني ٦ درجة الحرارة 25∓1 ولمدة عشرة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تركيز مبيد رايزولكس (غم/لتر)	الوزن الجاف (ملغم)
٠	٠.٤٣
٠.٠٠٢	٠.١٥
٠.٠٠٤	٠.١٣
٠.٠٠٨	٠.١٣
٠.٠١٦	٠.١٢
٠.٠٣	٠.١١
٠.٠٥	٠.١١
٠.٠٦	٠.٠١

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ = ٠.٠٦

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ = ٠.٠٤

٤-٣-٧-٣ تأثير مبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف

يبين جدول (١٢) تأثير تراكيز مبيد البنليت في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف إذ ظهر وجود فروً معنوية بين هذه المعاملات ومعاملة السيطرة إذ كان معدل الوزن الجاف ٠.٤٣ ملغم مقارنة بتركيز المبيد ٠.٠٠٣ غم/لتر فإن معدل الوزن الجاف ٠.٤٢ ملغم في حين ظهرت فروقاً معنوية مع باقي معاملات تراكيز المبيد، إن نسبة تثبيط الوزن الجاف للفطر باستعمال تراكيز المبيد قد تراوح مابين ١١٪-٩٧٪ قياساً بمعاملة المقارنة.

جدول (١٢) تأثير تراكيز مبيد البلنيت في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف النامي في وسط PS رقمه الهيدروجيني ٦ درجة الحرارة 25∓1 ولمدة عشرة أيام وبمعدل ثلاثة مكررات

تراكيز المبيد (غم/لتر)	الوزن الجاف (ملغم)
٠	٠.٤٣
٠.٠٠٣	٠.٤٢
٠.٠١	٠.٣٣
٠.٠٢	٠.٢٤
٠.٠٤	٠.١٤
٠.٠٦	٠.١٢
٠.٠٨	٠.١
٠.١	٠.٠٥

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠١ = ٠.١٥

قيمة L.S.D على مستوى معنوية ٠.٠٥ = ٠.١

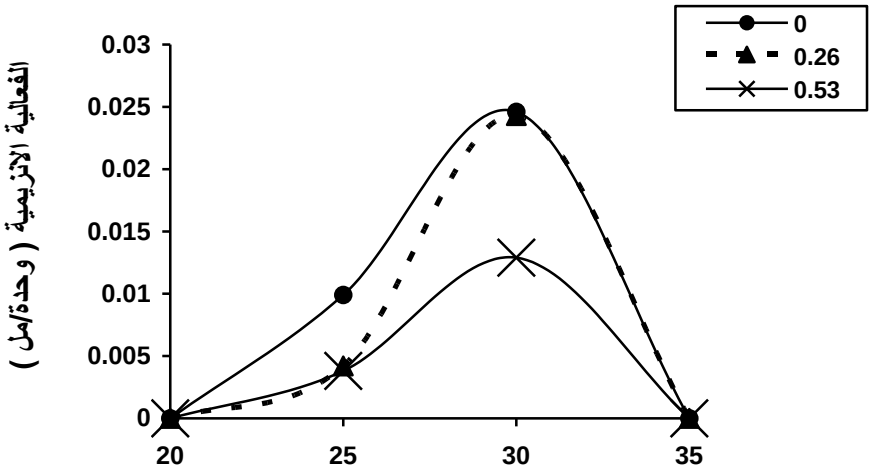
٤-٤ دراسة تداخل بعض العوامل البيئية ومبيد التشجازول المؤثرة في انتاج انزيم exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*

٤-٤-١ مدة الحضن

ظهر من خلال تجربة أولية التي استمرت أسبوعاً واحداً إن أعلى فعالية انزيمية لإنزيم exoglucanase كان بعد ثلاثة أيام من الحضن إذ بلغت الفعالية الانزيمية ٠.٠٣٩ وحدة/مل

وهذا ما لاحظناه أيضا بالنسبة لإنتاج البروتين إذ بلغ تركيز البروتين ١.٦٨مايكرو غرام /مل في اليوم الثالث من الحضن.

٤-٤-٢ تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد تشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر *R. solani*



الشكل (١٣) تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase النامي في الوسط الزرعي PS الحاوي على المصدر السليلوزي لمدة أربعة أيام بمعدل ثلاثة مكررات

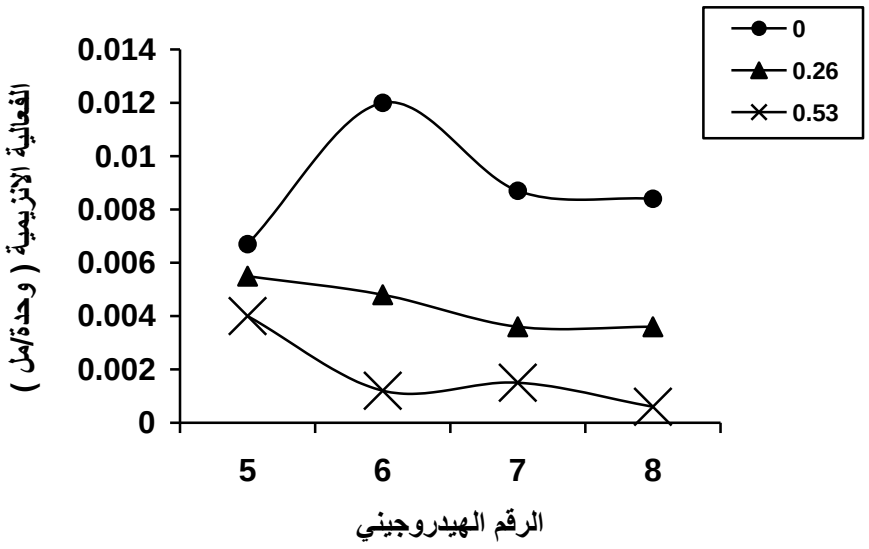
عند اختبار تأثير سلسلة من درجات الحرارة ٢٠ و٢٥ و٣٠ و٣٥م ظهر أن أفضل درجة حرارة للإنتاج كانت ٣٠م إذ بلغت الفعالية الانزيمية ٠.٠٢٤٦ وحدة/مل في حين بلغت الفعالية عند استعمال درجة حرارة ٢٥م ٠.٠٠٩٩ وحدة/مل، في حين وصلت الفعالية الإنزيمية إلى الصفر عند استعمال درجة حرارة ٢٠م و ٣٥م الشكل (١٣) وتم الحصول على نتيجة مماثلة لإنتاج البروتين إذ بلغ تركيز البروتين ٠.٥٩٤ مايكروغرام/مل.

كذلك يبين لنا شكل (١٣) تأثير درجة الحرارة ومبيد تشجازول بتركيزيه ٠.٢٦ و٠.٥٣ مل/لتر في خفض الانتاج الانزيم exoglucanase FPase لعزلة الفطر *R. solani*، إذ لم يُظهِرِ تأثيراً في إنتاج الإنزيم باستعمال تركيز ٠.٢٦ بدرجة حرارة ٣٠م، والحال نفسه بالنسبة لتكوين البروتين ولكن عند زيادة التركيز إلى ٠.٥٣ فإن إنتاج الإنزيم والبروتين قد انخفضا الى النصف ٠.٠١٢٩ وحدة/مل.

في حين أثر التداخل بين درجة حرارة ٢٥مْ ومبيد التشجازول ٠.٢٦ و٠.٥٣ مل/لتر في إنتاج الانزيم وبشكل ملحوظ فقد انخفض الانتاج الى النصف بتركيز ٠.٢٦ وأقل من ذلك بتركيز ٠.٥٣.

٤-٤-٣ تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد تشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase والبروتين

يبين شكل (١٤) تأثير التداخل ما بين الرقم الهيدروجيني ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase فقد بينت النتائج إن افضل رقم هيدروجيني لإنتاج انزيم exoglucanase كان ٥ إذ بلغت فعاليته ٠.٠١٩١ وحدة/مل أما تركيز البروتين فقد كان ٠.٩٥١ مايكروغرام/مل.



الشكل(١٤) تأثير التداخل ما بين الرقم الهيدروجيني ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase النامي في الوسط الزرعي PS الحاوي على المصدر السليلوزي درجة الحرارة ٣٠م لمدة أربعة أيام بمعدل ثلاثة مكررات

بينت نتائج هذه التجربة ان أعلى تثبيط لإنتاج الإنزيم قد حدث عند الرقم الهيدروجيني ٦ و ٧ إذ بلغ إنتاج الإنزيم ٠.٠٠٤٨ و ٠.٠٠٣٦ وحدة/مل على التوالي باستعمال تركيز ٠.٢٦ مل/لتر من مبيد التشجازول، في حين بلغ إنتاج الإنزيم ٠.٠٠٠٦ و ٠.٠٠١٥ وحدة/مل عند استعمال مبيد بتركيز٠.٥٣ وتم الحصول على نتيجة مماثلة في إنتاج البروتين، فقد بلغ تركيزه ٠.٢٤،٠.٥٤ ماكروغرام/مل عند استعمال المبيد بتركيز ٠.٥٣ مل/لتر و ٠.١٨ في حين بلغ تركيز البروتين ٠.١٢٤ ملغم/مل بتركيز ٠.٥٣ مل/لتر.

٤-٤-٤ تأثير التهوية والمزج ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase والبروتين

إن استعمال التهوية والمزج في وسط ساكن وآخر متحرك في إنتاج الإنزيم exoglucanase FPase إذ بلغ إنتاج الإنزيم ٠.٠٤٩٨ وحدة/مل في حين كان إنتاج الإنزيم في الوسط الساكن ٠.٠١٩١ وحدة/مل، أما تركيز البروتين في الوسط المتحرك ٠.٧٦٥

مابكروغرام/مل، وتركيزه في الوسط الساكن فكان ٠.٧٨٠. وتأثير التهوية على كفاءة مبيد تشجازول قد أثر في إنتاج الانزيم والبروتين فقد كان الإنتاج بوجود مبيد بتركيز ٠.٢٦ مل/لتر ٠.٠٣٣٩ وحدة/مل والبروتين ٠.٣٩ مايكروغرام/مل أما عند تركيز ٠.٥٣ فقد وصل إنتاج الإنزيم إلى ٠١٩٤٤ وحدة/مل والبروتين ٠.١٥ مايكروغرام/مل كما في جدول (١٣)

	الفعالية الانزيمية (وحدة/مل)		
	معاملة السيطره	تركيز المبيد ٠.٢٦مل /لتر	تركيز المبيد ٠.٥٣ مل /لتر
وسط متحرك	٠.٠٤٩٨	٠.٠٣٣٩	٠.٠١٨
وسط ساكن	٠.٠٢٠١	٠.٠١٦٥	٠.٠١٢

جدول (١٣) تأثير التداخل ما بين التهوية والمزج ومبيد التشجازول في انتاج انزيم exoglucanase FPase النامي في الوسط الزرعي PS الحاوي على المصدر السليلوزي رقمه الهيدروجيني ٥ درجة الحرارة ٣٠م لمدة أربعة أيام بمعدل ثلاثة مكررات

الفصل الخامس
المناقشة
Discussion

٥-١ تأثير درجة الحرارة ومدة الحضن في نمو الفطر *R. solani*

معظم الفطريات تنمو في مدى معين من درجات الحرارة يتراوح بين ١٥ – ٣٥ م. وقد أظهرت نتائج دراسة تأثير درجة الحرارة في نمو الفطر *R. solani*، إن للفطر القابلية للنمو بمدى حراري يتراوح بين ١٥-٣٥ مْ في حين كان أفضل نمو عند درجة حرارة ٢٥ م، وهي الدرجة الحرارية المثلى للنمو، في حين يصل النمو إلى أقل مستوى له عند درجة حرارة ١٥ م، ٣٥ م إذ لم يتجاوز قطر المستعمرة الفطرية المزروعة في الوسط الزرعي PSA بعد ٤ أيام من الحضن ١٦.١ ملم و١٨ ملم على التوالي. في حين حصل تثبيط كامل للنمو عند درجة حرارة ٤٠ م.

إن نتائج هذه الدراسة جاءت متفقة مع ما توصل إليه عباس (١٩٩٨) Yang and Harikrishnan (٢٠٠٤) الذين أشاروا إلى ارتفاع معدلات نمو بعض عزلات الفطر في درجة حرارة ٢٥-٣٠ م إذ بلغ قطر المستعمرة بدرجة حرارة ١٥ م ١٦ ملم، كما أكد عبد العزيز (١٩٨٣) تباطؤ نمو العزلات الممرضة لهذا الفطر بدرجة حرارة 35 ± 2 م.

أما الاختلاف في نتائج هذه الدراسة مع بعض الدراسات السابقة فإنه يرجع إلى اختلاف العزلة المدروسة، إضافة إلى ظروف التجربة. ويعزى سبب زيادة النمو في المدى الحراري 15 – 30 مْ إلى أن الفعاليات الحيوية للنمو تصل إلى قمة نشاطها عند الدرجة الحرارية المثلى، ومن ثم يسهل لها استغلال المصادر الغذائية في الوسط لغرض بناء الجزيئات الكبيرة Macromolecular ومن ثم بناء كتلة الفطر. ومن أهم الفعاليات الحيوية المرتبطة بنمو الفطر التي تتأثر بتغير درجات الحرارة عملية التنفس Respiration processes إذ تنخفض عملية التنفس عند خفض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو ومن ثم تتأثر عملية بناء الجزيئات الكبيرة Macromolecular وهذا ما يحدث عند خفض درجة الحرارة. في حين أنه عند رفع درجة الحرارة فإن عملية التنفس سوف تتوقف وتؤدي إلى موت الفطر حتى ولو انخفضت درجة الحرارة إلى الدرجة المثلى للنمو (Maheshwari *et al.*, ٢٠٠٠). فضلاً عن ذلك فإن فعالية إنزيمات النمو تتأثر بارتفاع درجات الحرارة إذ يحدث مسخ (denaturation) للتركيب البروتيني للإنزيم وحدوث خلل في الفعالية الإنزيمية مسبباً انخفاض النمو أو موت الفطر (السعد، ١٩٩٠).

أظهرت نتائج التجربة زيادة سرعة النمو وبالفترات الزمنية المدروسة ولجميع درجات الحرارة، وقد بلغ أعلى سرعة للنمو عند درجة حرارة ٢٥ م. وهذه جاءت متفقة مع نتائج Mazzola,*etal* (١٩٩٦). إذ أكد أن جميع العزلات الممرضة لنبات الحنطة استطاعت تغطية الطبق بأكمله بعد مدة حضن استمرت أربعة أيام بدرجة حرارة ٢٥ م.

كذلك فإن درجة الحرارة تؤدي دوراً مهماً في حدوث الامراضية فقد ذكر الباحث Babadoost (١٩٩٨)، إن أفضل درجة لحدوث الإصابة بين ٢٦-٢٩ م، في حين أنه عند انخفاض أو ارتفاع درجة الحرارة عن هذه الدرجة فإن الإصابة تنخفض. أما الباحث Kumar (١٩٩٩) فقد ذكر أن سلالة الفطر *R. solani* AGII تنمو في درجات حرارية ٢٠ و٢٥ و٣٠ و٣٥ م وتكون أشد إصابة للنبات عند درجة حرارة ٢٠ م.

٥-٢ تأثير نوع الأوساط الزرعية ومدة الحضن في نمو الفطر ***R. solani***

بينت نتائج هذه التجربة إن أفضل وسط لنمو الفطر *R. solani* كان Potato sucrose agar إذ بلغ قطر المستعمرة الفطرية ٥٧.٤ ملم تلاه وسط Malt extract agar ٥٢ ملم، ثم وسط Sabouroud agar ٤٩.٢ ملم.

إن زيادة نمو الفطر على الوسط الزرعي PSA ربما يعزى إلى احتوائه على السكريات الأحادية والمتعددة، التي يسهل استغلالها من قبل الفطريات. فنلاحظ أن الكفاءة الزرعية للنشا (سكريات متعددة) تعود إلى وجود بعض عوامل النمو بهيأة شوائب. أو أن التحلل المائي البطيء للنشا قد يسبب تراكماً أقل للحوامض (سرحان وشريف، ١٩٨٨) أما السكروز الذي يعد المكون الرئيس للسكريات الذائبة في النبات القادر على التركيب الضوئي، ومصدراً غذائياً مهماً للفطريات الممرضة للنبات. فضلاً عن أن وجود المصادر الكاربونية مثل السكريات الأحادية يؤدي إلى زيادة معدل النمو وزيادة الوزن الجاف أيضاً، وإنتاج الأحماض التي تسبب انخفاض الرقم الهيدروجيني للوسط الزرعي وجعله ملائماً لنمو الفطريات (Kunert, ٢٠٠٠).

أما سبب انخفاض النمو على وسط Malt extract agar و Sabouroud agar يعزى إلى طبيعة المكونات لهذين الوسطين التي ربما لم تُلبِّ حاجة الفطر من بعض العناصر الزرعية (Meletiadis *et al.*, ٢٠٠١; Guenea-Estrella *et al.*, ٢٠٠١).

فضلاً عن أن سرعة النمو قد تختلف بين سلالات النوع الواحد على الوسط الزرعي نفسه وهذا ما أوضحه Kumar (١٩٩٩) إذ بين أن *R. solani* AGII تنمو بسرعة على وسط PDA قياساً بـ *R. solani* AG٨. وقد توصل Abawi ,*etal* (١٩٨٦) ورمو (١٩٨٧) إلى استنتاجات مماثلة إذ بينا أن وسط PDA كان أفضل الأوساط لعزل الفطر *R. solani*، في حين ذكر Hine (١٩٩٩) أن وسط water agar هو الأفضل لنمو الفطر.

٥-٣ تأثير الرقم الهيدروجيني ومدة الحضن في نمو الفطر ***R. solani***

يؤدي الرقم الهيدروجيني للوسط أو البيئة دوراً مهماً ومؤثراً على الكائنات الممرضة للنبات في التربة التي يختلف نموها باختلاف الأرقام الهيدروجينية، وهذا ينعكس بدوره على الأحياء المجهرية إذ تتباين بقدرتها على إحداث المرض حسب نوعها إذ تتمكن بعض الفطريات من إحداث المرض بالوسط الحامضي أو القاعدي أو المتعادل. وأن للرقم الهيدروجيني أهمية كبيرة في تنظيم التبادل الأيوني عبر الغشاء النووي إذ أن عملية دخول الأيونات الموجبة تزداد عندما يزداد الرقم الهيدروجيني والأيونات السالبة يزداد دخولها عندما ينخفض الرقم الهيدروجيني ومن ثم لابد من وجود قيمة للرقم الهيدروجيني تكون فيها دخول الأيونات الموجبة والسالبة بصورة متوازنة وهذا الرقم سمي بالرقم الهيدروجيني الأفضل.

وإن نتائج هذه التجربة أوضحت لنا أن أفضل نمو لعزلة الفطر كان بالرقم الهيدروجيني ٦ إذ بلغ قطر المستعمرة *R. solani* ٨٦.٣ ملم وهذه النتائج جاءت مقاربة لما ذكره عبد العزيز(١٩٨٣) إذ وجدت أن الرقم الهيدروجيني لنمو العزلات المرضية لفطر *R. solani* يتراوح بين ٥ – ٦ .

وإن للرقم الهيدروجيني أهمية كبيرة في تحديد الامراضية الفطرية للنبات، فمثلاً الوسط الحامضي له دور مهم في إصابة النبات من قبل *S. sclerotiorum* يفرز هذا الفطر إنزيمين هما endopolygalacturonase وprotease اللذان لهما دورٌ مهمٌ في الامراضية وتزداد الفعالية الإنزيمية ضمن الوسط الحامضي.

أما الفطر *A. nidulans* فيحتاج لغرض النمو وإحداث الامراضية وسطاً قاعدياً (Penalva and Arst, ٢٠٠٢).

٥-٤ دراسة كفاءة بعض المبيدات الفطرية المضادة لنمو الفطر *R. solani*

٥-٤-١ اختبار كفاءة المبيدات الفطرية في تثبيط النمو القطري للفطر *R. solani*

بينت نتائج هذه الدراسة تأثير المبيدات الفطرية على قطر مستعمرة الفطر *R. solani*. إن المبيد الفطري تشجازول Tachigazel الذي يمتلك كفاءة مثبطة واطئة ضد الفطر *R. solani*. أدى استعمال تراكيز عالية ٠.٣٣ – ٢.١٣مل/لتر من المبيد سبب تثبيطاً لنمو الفطر بنسبة تراوحت بين ٣.٣٣% - ٥٩.٥٢٪. أما مبيد الرايزولكس (Rizolex) الذي يعد من المبيدات المتخصصة والكفوءة في القضاء على *R. solani* فقد تراوحت نسبة التثبيط بين ٧٠٪ - ٨٣٪ عند التراكيز ٠.٠٠٢ - ٠.٠٦ غم/لتر.

أما نسبة التثبيط التي أحدثها مبيد النبليت فقد تراوحت بين ٥٧.٧% - ٨١.٣% عند التراكيز ٠.٠٣٣ – ٠.٠٨ غم/لتر. يبدو من نتائج هذه التجربة أن مبيد الرايزولكس وبتراكيزه الواطئة قد تفوق معنوياً في تأثيره في نمو الفطر *R. solani*، تلاه مبيد البنليت، في حين أن مبيد

التشجازول لم يكن ذا كفاءة عالية في تثبيط الفطر المعروف بتخصصه ضد *pythium* و *Aphanomyces* قياساً بفطر *R. solani*.

وقد أشار الكثير من الباحثين إلى كفاءة مبيد رايزولكس في تثبيط نمو الفطر *R. solani* (رموه، ١٩٨٧ ;١٩٩٠ Koster and Meer, ٢٠٠١; Wiks *et al.*,) بالمقارنة بمبيد التشجازول الذي كان أكثر كفاءة في القضاء على فطر الـ *Fusarum* spp (Martin, ٢٠٠٤).

أما تأثير المبيدات الفطرية على النمو بدلالة الوزن الجاف، فقد أوضحت نتائج هذه التجربة أن المبيدات الفطرية (تشجازول Tachigazol، رايزولكس Rizolex، البنليت Benlat) لها تأثير معنوي في تثبيط نمو الفطر *R. solani* جدول (١٠, ١١, ١٢). حيث أظهر مبيد رايزولكس فعالية عالية في نمو الفطر *R. solani*.

وهذا ما لوحظ أيضاً في مبيد البنليت حيث أظهر تأثيراً في نمو الفطر *R. solani* بدلالة الوزن الجاف، إذ أن الفطر الممرض معروف بحساسيته لمبيد البنليت ذا النشاط الجهازي وأن تثبيط النمو ربما يعود لتأثير المبيد على إنزيمات المايتوكوندريا أو إلى التأثير على تضاعف DNA والانقسام الخلوي إذ أن مبيد البنليت يتحول إلى methyl-٢-benzimidazde carbmat وcarbendazim. وهذه المواد تؤثر في التخليق الحيوي لـ DNA خلال عملية انقسام الخلية الفطرية (شعبان والملاح، ١٩٩٣).

٥-٥ دراسة تداخل بعض العوامل البيئية و مبيد تشجازول المؤثرة في انتاج انزيم **Exoglucanase FPase** و البروتين للفطر ***R. solani***

٥-٥-١ مدة الحضن

تختلف سرعة نمو الفطريات وإنتاجها للمواد الايضية باختلاف أنواعها والوسط المستعمل وظروف التنمية، وهذا ما ظهر في إنتاج إنزيم السليليز إذ تختلف سرعة إنتاج الإنزيم باختلاف أنواع الأعفان المنتجة عند تنميته في الظروف نفسها (Kim *et al.*, ١٩٨٥).

وقد أظهرت نتائج الدراسة الأولية لقياس أفضل مدة حضن لإنتاج إنزيم exoglucanase FPase والبروتين هو اليوم الثالث.

٥-٥-٢ تأثير التداخل بين درجة الحرارة ومبيد تشجازول في إنتاج انزيم exoglucanase FPase والبروتين لعزلة الفطر*R. solani*

أظهرت نتائج تجربة درجة الحرارة ومبيد تشجازول أن أفضل درجة حرارة لإنتاج الإنزيم كانت درجة حرارة ٣٠ م. إذ بلغت الإنتاجية ٠.٠٢٤٦*u*/ml وتركيز البروتين ٠.٥٧ ملغم/مل. وانخفض الإنتاج للإنزيم بالتزامن مع انخفاض تركيز البروتين عند درجة حرارة ٢٥ م مما يشير إلى أن درجة الحرارة الملائمة لإنتاج الإنزيم تختلف عن درجة حرارة النمو للفطر. وهذا ما نجده عادة في أغلب الفطريات، إذ تختلف درجة حرارة النمو عن درجة حرارة إنتاج الإنزيم. وهذه النتائج تتفق مع (Kim *et al.*, ١٩٨٥) إذ وجدوا أن الدرجة المثلى لإنتاج الإنزيم السليليز ٣٠-Rut *T. reesei* كانت ٣١ م هي المثلى لإنتاج إنزيم سليليز. في حين ذكر (عباس، ٢٠٠٢) أن فطر *Aspergillus* كانت درجة الحرارة المثلى لإنتاج الإنزيم سيليلز هي ٣٠م أما أفضل درجة حرارة سجلت لإنتاج إنزيم Laccase والمفرز من فطر *R. solani* كانت ٣٧ م (Bora, ٢٠٠٣).

أما نتائج تأثير عامل الحرارة والمبيد على إنتاجية إنزيم exoglucanase FPase، فقد ظهر انخفاض الإنتاجية بدرجة حرارة ٢٥ م ولكلا التركيزين المدروسين ٠.٢٦ و٠.٥٣ إلى النصف قياساً بمعاملة السيطرة، ورافق ذلك انخفاض في تركيز البروتين أما كفاءة مبيد التشجازول بتركيز ٠.٢٦ في التأثير على إنتاج الإنزيم لم يكن معنوياً عند درجة حرارة ٣٠ م، في حين تأثيره على تكوين البروتين كان واضحاً، أما تأثير درجة الحرارة وتركيز مبيد تشجازول ٠.٥٣

فقد انخفض إنتاج الإنزيم إلى النصف وكذلك على تركيز البروتين. في حين انخفضت إنتاجية الإنزيم في درجة حرارة ٢٠ م و٣٥ م إلى الصفر، إن هذه النتائج بينت أن تأثير درجة الحرارة على فعالية المبيد كانت عالية ومحددة في الوقت نفسه، إذ تؤدي درجة الحرارة دوراً مهماً في زيادة التفاعلات أثناء التحول الكيمياوي chemical degradation (Brown *et al.*,

(١٩٩٧. أو ربما يحصل عند هذه الدرجة تحطيم المبيد إنزيمياً، وتحدث عملية التكسير المايكروبي للمبيدات في درجات الحرارة المعتدلة والتهوية المعتدلة والرقم الهيدروجيني متعادلة. أو أن الفطر استهلك المبيد بطريقة أخرى تعرف cometabolism التي تحدث عندها المادة العضوية للمبيدات لا تستعمل كمصدر للنمو وإنما تتأيض مع مادة أخرى تستعمل للنمو (Devlin *et al.*, ١٩٩٢).

٥-٥-٣ تأثير التداخل بين الرقم الهيدروجيني ومبيد تشجازول في إنتاج إنزيم exoglucanase FPase والبروتين

ظهر من النتائج شكل (١٤) تأثير الرقم الهيدروجيني في إنتاج إنزيم exoglucanase FPase، إذ أن الرقم الهيدروجيني ٥ كان الأفضل لإنتاج إنزيم exoglucanase FPase البروتين إذ بلغت الإنتاجية (٠.٠٠٦٧) وحدة/مل في حين كان تركيز البروتين (٠.٣١٧). إن هذه النتائج جاءت متفقة مع ما ذكره (Tangnu *et al.*, ١٩٨١) إذ ذكر أن أفضل pH لإنتاج إنزيم Cellulase و B-glucosidase كانت عند الرقم الهيدروجيني ٥ و٦.

أما علي وجماعته (١٩٩٨) فقد ذكروا أن أفضل الرقم الهيدروجيني هو ٥.٢ لفطر *Aspergillus niveus* لإنتاج إنزيمات بيتا كلوكوسايديز الداخل والخارج خلوية. أما تأثير الرقم الهيدروجيني ومبيد التشجازول عند الرقم الهيدروجيني ٦ و٧ فقد كانت معنوية في خفض إنتاجية الإنزيم، إذ انخفضت الإنتاجية إلى الثلث عند تركيز 1×10^{-4} ملغم/مل وإلى السدس عند تركيز (2×10^{-4}) ملغم/مل ورافق ذلك انخفاض تركيز البروتين. وكان للمبيد تأثير واضح عند الرقم الهيدروجيني ٨ على إنتاج الإنزيم عند استعمال تركيز 1×10^{-4} ملغم/مل، لكنه دون مستوى الرقم الهيدروجيني (٦ و٧). ولكن عند زيادة التركيز (2×10^{-4}) فإن التأثير على الإنتاج وتركيز البروتين انخفض إلى ما يقارب ١٠٪.

وبما أن الرقم الهيدروجيني من العوامل المهمة والمؤثرة في بقاء وفعالية المبيد، إذ أن بعض المبيدات تكون حساسة للتحلل المائي في الظروف القاعدية وقد تتحطم أخرى، في حين أن بعضها تزداد سميته عند إضافتها مع المخصبات (Brown *et al.*, ١٩٩٧).

أما Devlin وجماعته (١٩٩٢) فقد ذكر أن أفضل الرقم الهيدروجيني لتكسير المبيدات العشبية بوساطة الأحياء المجهرية والمتمثلة بالبكتريا والفطريات والفطريات الشعاعية والطحالب كانت بحدود ٥.٥ إذ إن عملية تكسر المبيدات تحدث بصورة أكبر في الوسط الحامضي قياساً بالوسط القاعدي.

٥-٥-٤ تأثير التداخل بين التهوية والمزج ومبيد تشجازول في إنتاج إنزيم exoglucanase FPase

تعد التهوية والمزج للأوساط الزرعية ذا أهمية في إنتاج الإنزيمات من الأحياء المجهرية الهوائية. وتأتي هذه الأهمية في حاجة الأحياء المجهرية للأوكسجين المذاب وتوزيع مادة الركيزة (Substrat) في وسط التنمية (الدليمي، ٢٠٠٢).

وقد أوضحت نتائج التهوية والمزج أنه عند استعمال الحاضنة الهزازة بسرعة ١٢٠ دورة/دقيقة كان الإنتاج عالياً لإنزيم exoglucanase FPase قياساً بالوسط الساكن. أما نتائج تأثير التهوية والمزج بوجود تشجازول في إنتاجية إنزيم exoglucanase FPase إنه قد ساعدت في زيادة كفاءة المبيد في خفض الإنتاجين وازداد التأثير بزيادة التركيز للمبيد ورافق ذلك أيضاً انخفاض تركيز البروتين.

أما الوسط الساكن لم يكن ذا كفاءة في زيادة فعالية المبيد ضد إنتاج الإنزيم ومن خلال ما تقدم تظهر أهمية عامل التهوية في إنتاج الإنزيم، فقد ذكر الكسندر (١٩٨١) أن التهوية تتحكم في تركيب الفلورا النشطة إذ تسود الكائنات الهوائية في البيئات المحتوية على الأوكسجين في حين معدل الايض السليلوزي ينخفض بشدة في البيئات الفقيرة بالأوكسجين.

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommended

الاستنتاجات

١. أظهرت نتائج الدراسة أن الظروف الفيزياوية المثلى لنمو وتطور فطر *R. solani* كانت درجة الحرارة ٢٥ م، الرقم الهدروجيني (٦)، الوسط الزرعي، وسط PSA.

٢. إن مبيد Rizolex كان أكفأ المبيدات المستعملة للسيطرة على نمو الفطر *R. solani* بتركيز(٠.٠٦ غم/لتر) إذ وصلت نسبة التثبيط إلى ١٠٠%.

٣. ظهر أن الظروف المثلى لإنتاج إنزيم exoglucanse FPase كانت درجة الحرارة ٣٠ م، ورقم هيدروجيني (٥) أما المزج والتهوية فكانتا بسرعة ١٢٠ rpm خلال ثلاثة أيام من الحضن.

٤. أثر مبيد تشجازول في إنتاجية إنزيم exoglucanase (FPase) مخفضاً إياه بنسبة ٣٠٪.

التوصيات

١. إجراء تجارب حقلية موسعة لمعرفة كفاءة مبيدة الرايزولكس ضد فطر *R. solani*. مع الأخذ بنظر الاعتبار عمر النبات ونوع التربة والموسم الزراعي والأسمدة المستعملة.

٢. إجراء بحث ميداني لمتابعة تأثير متبقيات مبيد الرايزولكس في التربة على بعض الأحياء المجهرية المهمة.

٣. تطوير مستوى الدراسة الحالية لتنقية إنزيم exoglucanas FPase. باستعمال سلالات عديدة للفطر أعلى وتحت ظروف بيئية مختلفة مع متابعة تأثير ذلك في كفاءة مبيد الرايزولكس التجشازول في التأثير في فعالية إنزيم السليليز ضمن الظروف المختبرية.

٤. إجراء بحث مختبري وميداني حول السيطرة المتكاملة باستعمال مبيد التشجازول وأحد المبيدات الحيوية ضد الفطر *R. solani*.

المصادر العربية

البهادلي، علي حسين؛ هيفاء أحمد الزهرون؛ ناهدة مهدي صالح (١٩٨٨). مقاومة الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض سقوط البادرات باستخدام مبيد Monceren. مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية. ٧(١): ٦٥-٧٤.

الدليمي، خلف صوفي داوود (٢٠٠٢). الإنزيمات المايكروبية والتفافات الحيوية. جامعة فيلادلفيا-الأردن. ٩٨ – ١٢١.

الراوي, خاشع محمود ,خلف الله ,عبد العزيز محمد .(٢٠٠٠) تصميم و تحليل التجارب الزراعيه .الطبعه الثانيه. جامعة الموصل صفحه ٣٦٠

السعد، مها رؤوف (١٩٩٠). مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. جامعة بغداد. الطبعة الثانية. صفحه ٧٥.

العادل، خالد محمد ومولود كامل عبد (١٩٧٩). المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات. مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. صفحه ٣٩٧.

الكسندر، مارتن (١٩٨١). مقدمة لمكروبيولوجيا التربة. الجزء الأول. جامعة بغداد. صفحه ٢٢١.

الوائلي، ضياء سالم علي (٢٠٠٤). دراسة مرض موت بادرات الطماطا ومكافحتها المتكاملة في مزارع الزبير وسفوان في البصرة. اطروحة دكتوراه. كلية علوم. جامعة البصرة. صفحه ٩٦.

بدن، محمد حسن (١٩٩٦). تأثير بعض المبيدات على فطريات التربة غير المستهدفة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة البصرة. صفحه ٨٣.

حسن، حسن خالد (١٩٧٩). تكنولوجيا استخدام الأحياء المجهرية في إنتاج الإنزيمات. مركز بحوث النجيل والتمور. تقرير علمي رقم ١. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق. بغداد.

حسن, شذى سلمان (١٩٩٦).انتاج وتنقية وتوصيف البروتيز القاعدي من العفن *Aspergillus oryzae*.اطروحة دكتوراه كليةالعلوم_ جامعة بغداد.

رمو، روعة أديب نعيم (١٩٨٧). دراسة بايولوجية لأربع عزلات من *Rhizoctonia solani* Kuhm المعزولة من القرعيات وتأثير بعض المبيدات عليها. رسالة ماجستير. كلية الزراعة-جامعة بغداد.

سرحان، عبد الرضا طه؛ شريف؛ فياض محمد (١٩٨٨). فسلجة الفطريات، جامعة صلاح الدين. صفحه ١٢٢.

سعيد، كامل كزار (١٩٨٦). دراسة تأثير الفطريات المعزولة من الحنطة وإفرازاتها على الإنبات. المجلة العراقية للعلوم الزراعية (زانكو) ٤(٤): ١٦٣-١٧١.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح، (١٩٩٣). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل صفحة ٥٢٠.

طه، خالد حسين (١٩٨٢). موت البادرات وعفن جذور التبغ في العراق. رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة الموصل.

عباس، محمد حمزه (١٩٩٨). دراسة حياتية ووقائية للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لتعفن بذور وموت بادرات الحنطة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة البصرة.

عباس، مروج سعدي (٢٠٠٢). تأثير درجة الحرارة على فعالية إنزيمات β --glucosidase الخارج والداخل خلوية في جنس Aspergillus. مجلة جامعة بابل. ٧(٣)٢٥٥ - ٢٦١.

عبد العزيز، تكسانه (١٩٨٣). المقاومة الحياتية لبعض فطريات التربة المرضية باستخدام عزلة غير مرضية *Rhizoctonia solani* Kuhm. رسالة ماجستير. كلية العلوم- جامعة بغداد.

علوان، صباح لطيف (١٩٩٦). السيطرة الحيوية للفطر *R. solani* المسبب لذبول الحنطة باستخدام عزلة غير ممرضة للفطر *R. solani* والفطر *Trichoderma harziaium*. مجلة البصرة للعلوم الزراعية. صفحه ١٠٥.

مصطفى، فاضل حسين (١٩٧٤). قائمة بالأمراض النباتية الشائعة في العراق قسم الأمراض النباتية. دار الحرية للطباعة. بغداد

منقريوس، أنور توفيق؛ عبد الله؛ عدنان محمود (١٩٨٤). تتابع إنتاج الإنزيمات المحللة للسكريات المتعددة المفرزة خارج خلايا الطفيليات المسببة لعفن جذور الحمص. المؤتمر العلمي الأول للبحوث الزراعية التطبيقية. بغداد (ملخص).

المصادر الإنكليزية

Abawi, G.S. and Cobb, A..C.(١٩٨٤). Efficacy of fungicides as seed treatments for the control of beet root rot, (١٩٣٣). Fungicide & Nematicide Tests ٣٩: ٦٣-٦٥.

Abawi, G.S.; Crosier, D.C.; Cobb, A.C. and Becker, R.F. (١٩٨٦). Root Rot of Beets in New York State. New York's food & life Sciences Bulletin. No. ١١٥.

Agrios, G.N. (١٩٩٧) plant pathology. Fourth edition, Academic Press.

Akai, S.; Ogura, H. and Sato, T. (١٩٦٠). Studies on *Pellicularia filamentosa* between pathogenicity and some characters on culture media (Japanese with English Summary) Ann. Phytopathol. Soc. Japan. ٢٥: ١٢٥-١٣٠.

Al-Beldawi, A..S. and Pinckard, J.A.. (١٩٧٠). Control of *Rhizoctania solani* Kuhn on cotton seedlings by means of Benomyl. Plant D.S. Rep. ٥٤: ٧٦-٨٠.

Al-Kaisi, W.A. (١٩٧٨). Studies on Damping off Disease of Seeding caused by *Rhizoctonia solani* . M.Sc. thesis, Baghdad University, Baghdad.

Aubaid, A..H. and Muhsin, T.M. (١٩٩٥). Purification and kinetic studies of exocellular protease from *Trichophyton mentagrophytes* Var. erinacea. Mycoses; ٤١: ١٦٣-١٦٨.

Babadoost, M. (١٩٩٨). *Rhizoctonia* Root and Stem Rot of Soybeans. IPM integrated pest management. RPD No. ٥١١.

Barker, K.R. and Walker, J.C. (١٩٦٢). Relationship of pectolytic and cellulytic enzyme production by strains *Pellicularia filamentose* to their pathogeniaty. ٥٢: ١١١٩-١١٢٥.

Bateman, D.F. and Dimock. A.W. (١٩٥٩). The influence of Temperature on root-rots of poinsettia caused by *Thielaviopsis basicola*, *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. Phytopathology. ٤٩: ٦٤١-٦٤٧.

Bollok, M. and Reczey, K. (١٩٩٨). Effect ph pH on cellulase enzyme production by *Trichoderma ressei* Rut C-٣٠ on various fractions of pre treated willow. Technical university of Budapest, Hungary. ١٥٢١

Bora, P. (٢٠٠٣). Production of lacease by the phytopathegence fungus *Rhizoctonia solani*. Digital theses, Science & Engineering Biological Science and Biotechnology, Murdoch University.

Bressollier, P.; Letourneau, F. Urdaci, M., and Vernevil, B. (١٩٩٩). Purification & characterization of akeratinolytic serine proteinase from *Streptomyces albidoflavus*. Applied & Environmental Microbiol.; ٦٥: ٢٥٧٠-٢٥٧٦.

Brown, C.L. Hock, W.K.; Sanders, D.P. and Jarman, J.H. (١٩٩٧). Pesticides and the environment. Penn State University. Extension Agrichemical Fact Sheet. ٥٧٣: ٨٨٢-٧٢١٦.

Burns, J.R. and Benson, D.M. (٢٠٠٠). Biocontrol of Damping-off of *Catharanthus roseus* caused by *Pythium Ultimum* with

Trichoderma virens and Binucleate *Rhizoctonia fungi*. Plant Dis. ٨٤: ٦٤٤-٦٤٨.

Carling, D.E.; Leiner, R.H. (١٩٨٦). Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and Binucleate *Rhizoctonia solani* like fungi from Aerial stems & subterranean organs of potato plants. Phytopathol. ٧٦: ٧٢٥-٧٢٩.

Carling, D.E.; Leiner, R.H. and Westphale, P.C. (١٩٨٩). Sympton signs and Yield reduction associated with Rhizoctonia disease of potato induced by tuber borne introduction of *Rhizoctonia solani* AG-٣. Ameri. Potato J. ٦٦: ٦٩٣-٧٠١.

Cartwright, R. Lee. F. (٢٠٠٣). Sheath blight and Management of Rice Disease. Rice production Handbook. USA. University of Arkansas Division of Agriculture. Cooperative Extension service.

Castro, C.; Davis, J.R. and Wiese, M.V. (١٩٨٣). Differential medium for identification of *Rhizoctonia solani* AG-٣. Plant Dis. ٦٧: ١٠٦٩-١٠٧١.

Ceresini, P. (١٩٩٩). *Rhizoctonia solani*. as one of the requirements of the course pp. ٧٢٨ soil borne plant pathogene.

Christine, T.S.; Powell, C.C. and Schmilthenner, A.F. (١٩٨١). A method of evaluating post emergence damping-off pathogen of Bedding plants. Phytopathology. ٧١: ١٢٢٥-١٢٢٨.

Couchon, N. and LeDuy, A. (٢٠٠١). Novel process for the production of cellulolytic enzyme. Biotechnol Bioeng. ٢٧:٤.

Crosier, W.F.; Natti, J.J. and Crosier, D.C. (١٩٦٧). Occurrence of *Rhizoctonia* spp. in seeds of small grain and other plants. Phytopathol. ٥٧: ٨٠٣.

Dahot, M.U. (١٩٩٤). Purification and some properties of alkaline protease for *Penicillium expansum*. Journal of Islamic Academy of sciences, ٧,٢.

De Marco, J.L. and Felxi, C.R. (٢٠٠٢) characterization of protease produced by *Trichoderma harzianum* isolate which controls cocoa plant witches' broom disease, BMC Biochemistry; ٣: ٣ article.

Devlin, D.L.; Peterson, D.E. and Regchr, D.L. (١٩٩٢). Residual Herbicides Degradation and Recropping Intervals. Kansas State University. K. State Res. and Extension. No. C٧٠٧.

Dey, P.M. and Harborine, J.B. (١٩٩٧). Plant Biochemistry Academic Press. pp: ٤٨٧-٤٩٤.

Dorrance, A.E.; Lipps, P.E. and Mills, D.R. (٢٠٠٠). *Rhizoctonia* Damping-off and stem Rot of soybeans. Ohio State University Extension Fact Sheet. Plant Pathology. AC_٠٠٢٥-٠١.

Drori, N.; Kramer-Haimovich, H.; Rollins, J.; Dinoor, A.; Oh, Y.; Pines, O. and Prusky, D. (٢٠٠٣). External pH and Nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletrichum gloeosporioides*. Environ. Microbial. ٦٩: ٣٢٥٨-٣٢٦٢.

Duff, J.B.; David, G.C. and Fuller, O.M. (١٩٨٦). Evaluation of the hydrolytic potential of a crude cellulose from mixed cultivation

of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus phoenicis.* Enzyme Microb. Technol. ٨: ٣٠٥-٣٠٨.

Eveleigh, D.E. (١٩٨٧). Cellulose: aperspective. Phil. Trans. R. sec. of Lond. A ٣٢١, ٤٣٥-٤٤٧.

Garrett, S.D. (١٩٦٢). Decomposition of cellulose in soil by *Rhizoctonia solani*. ٤٥: ١١٥-١٢٠.

Guenea-Estrella, M.; Diaz-Guerra, T.M.; Mellado, E. and Rodriguz Tudela, J.L. (٢٠٠١). Influence of Glucose Supplementation and Inoculom size on Growth kinetics and antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. Journal of Clinical Microbiol.; ٣: ٥٢٥-٥٣٢.

Hall, K.; Davies, T. and Wick, T. (٢٠٠٠). Biological and Chemical control of *Rhizoctonia*. Plant Research Center. HRDC Project PT ٩٨٠٣٦.

Harikrishnan, R. and Yang, X.B. (٢٠٠٤). Recovery of Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* from different Latitudinal Positions and Influence of Temperatures on their growth and survival plant diseases. Plant dis. ٨٨: ٨١٧-٨٢٣.

Hine, R. (١٩٩٩). Disease of Urban plant. University of Arizona. Collage of agriculture and life sciences. Plant Dis. Publication Cooperativr Extension.

Hollidey, P. (١٩٨٠). Fungus Diseases of Tropical crops Cambridge University Press.

Israel, O.P. and Ali. M.S. (١٩٦٤). Effect of carbohydrates on the growth of *Rhizoctonia solani* Kuhn Biol. Plantrum ٦: ٨٤-٨٧.

Jhooty, J.S. and Grover, R.K. (١٩٧١). *Rhizoctoniz* root rot of cucurbits and its control in India. Indian phytopathology. ٢٤: ٥٧١-٥٧٤.

Kacar, N.C. (١٩٩٨). Effects of Trifluralin, cupravit and DDVP. On the soil microflora. Bull Environ. Contam. Toxicol. ٢: ١٣٣٧-١٣٤٥.

Kataria, H.R. and Grover, R.K. (١٩٧٦). Some factors affecting the control of Rhizoctonia by systemic and non-systemic fungicides. Ann. Appl. Biol. ٨٢: ٢٦٧-٢٧٨.

Kerle, E.A.; Jenkins, J.J. and Vogue, P.A. (١٩٩٦). Understanding pesticides persistence and mobility for groundwater and surface water protection. Oregon State University. Extension Service. EM٨٥٦١

Kim, J.H.; Hosobuchi, M.; Kishimoto, M.; Seki, T. and Ryn, D.D.X. (١٩٨٥). Cellulase production by a solid state culture systems. Biotechnol, Bioengi ٢٧: ١٤٤٥-١٤٥٠.

Kjoller, R. and Rosendahl, S. (٢٠٠٠). Effects of Fungicides on arbuscular mycorrhizal Fungi: differential responses in alkaline phosphatase activity of external and internal hyphae. Biol Fertil soils ٣١: ٣٦١-٣٦٥.

Koster, A. th. J. and Meer, L.J.V.D. (١٩٩٠). Control of *Rhizoctonia solani* in the field with allow dosage of Tolclofas methyl or

flutolanil. ISHS acta horticulture: ٢٦٦:V International Symposium on flower Buds.

Kumar, S.; Sivasithamparam, K.; Gill, J.S. and Sweetingham, M.W. (١٩٩٩). Temperature and water potential effects on growth and pathogenicity of *R. solani*, AG. II to Lupin. Canadian J. of Microbil. ٤٥: ٣٨٩-٣٩٥.

Kunert, J. (٢٠٠٠). Physiology of keratinophilic fungi. RevistaIbero americana de Micrologia; ٧٧-٨٥.

Lee, K.W.; Park, K.K.; Park, H.S. and Lee, J.B. (١٩٨٧). Isolation, Purification and characterization of keratinolytic proteinase from *Microsporum cains*. Yonsei Medical Journal; ٢٨: ١٣١-١٣٨.

Lima, V.M.G.; Krieger, N.; Sarquis, M.I.; Mitchell., D.A. (٢٠٠٣). Nitrogen and Carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. Food Technol. Biotechnol.; ٤١: ١٠٥-١١٠.

Lipps, P.E.; Dorrance, A.E. and Rhodes, L.H. (٢٠٠٠). Efficacy of seed Treatment Fungicides for agronomic crops in Ohio. The Ohio State University. Bulleten ٦٣٩A-٠١.

Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randal, R.J. (١٩٥١). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem.. ١٩٣: ٢٦٥-٢٧٥.

Maheshwari, R.; Bharadwaj, G. and Bhat, M. (٢٠٠٠). Thermophlic Fungi; their physiology and enzymes. Microbiology and Molecular Biology Review. ٦٣: ٤٦١-٤٨٨.

Mandels, M.; Andreotti, R. and Reche, C. (١٩٧٦). Measurement of Saccharifying cellulose, Bio. Technol. Bioeng. Symp. ٦: ٢١-٢٣.

Manners, J.G. (١٩٨٢). Principles of plant pathology Cambridge University Press.

Martin, H.L. (٢٠٠٤). Management of soil borne disease of beet root in Australia. Australian Journal of experimental Agriculture. ٤٣: ١٢٨١-١٢٩٢.

Mazzola, M.; Wong, O. and Cook, R.J. (١٩٩٦). Virulence of *Rhizoctonia oryzae* and *Rhizoctonia solani* AG-٨. On Wheat and detection of *Rhizoctonia oryzae* in plant tissue by PCR. Phytopathol. ٨٦: ٣٥٤-٣٦٠.

Mc Donald, S.K.; Hofsteen, L. and Downey, L. (٢٠٠٣). Crop profile for field corn in Colorado. Bioagricultural sciences and pest Management.

McGrath, M.T.(٢٠٠٤) What are Fungicides ? The plant Health Instructor. :١٠-١٠٩٤/PHI-I-٠٨٢٥-٠١.

McMullen, M.P. and Lamey, H.A. (٢٠٠٠) Seed treatment for Disease control. North Dakota state university. NDSU Extension service. pp: ٤٤٧.

Meletiadis, J.; Meis, J.F.G.M.; Mouton, J.W. and Verweij, P.E. (٢٠٠١). Analysis of growth characteristics filamentous fungi in Different Nutrient Media. J. Clinical Microbiology, ٣٩: ٤٧٨-٤٨٤.

Montealegre J.R.; Reyes, R.; Perez, L.; Herrrera, R.; Silva, P. and Besoain, X. (٢٠٠٣). Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in Tomato. Electroni, J. of Biotechnology. ١٦.٠٧١٧-٣٤٥٨.

Mullings, R. (١٩٨٥). Cellulases Enz. Microb. Technol. ٧: ٥٨٦-٥٩١.

Ogoshi, A. (١٩٨٧). Ecology and pathogenicity of anastomosis and inter a specific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn Ann. Rev. Phytopathol. ٢٥: ١٢٥-١٤٣.

Ogoshi, A. (١٩٩٦). Introduction the genus *Rhizoctonia* . In: Sneh B. Jabaji-Hare, S. Neate, S. and Dijst. G. (Eds). *Rhizoctonia species*. Taxonomy, Molecular Biology,Ecology, Pathology and disease control. Khwer Academic Publishers. Dondrecht, the Netherlands.. ١-٩.

Ohh, S.H. (١٩٨٦). Diseases of ginseng: Environmental and Host effect on disease out break and growth of pathogens. Korean J. Ginsenge Sci. ٥:٧٣-٨٤.

Papavizas, G.C.; Adamas, P.B.; Lumsden, R.D.; Lewis, J.A.; Dow, R.L.; Ayers, W.A. and Kantzes. (١٩٧٥). Ecology and Epidemiology of *Rhizoctonia solani* field. Soil. Phytopathology. ٦٥: ٨٧١-٨٧٧.

Park, D. (١٩٦٨). The ecology of terrestrial fungi. In: the fungi (eds: Ains woith, G.C. and sussmanl, A.S. ٣: ٥-٣٧. Academic New York.

Parmeter, J.R. and Whitney, H.S. (١٩٧٠). Taxonomy and nomenclature of the imperfect state in *Rhizoctonia solani* Biology and pathology ed: parmeter J.R. University of California Barkely Los Angeles pp: ٧-١٠.

Penalva, M.A. and Arst, H.N. (٢٠٠٢). Regulation of gene expression by Ambient pH in Filamentous Fungi and yeast. Microbiology and Molecular Biology Reviews. (٦٦), : ٤٢٦-٤٤٦.

Picard, K.; Tirilly, Y. and Benhamou, N. (٢٠٠٠). Cytological effect of cellulases in parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum* App. Environ. Microbial; ٦٦: ٤٣٠٥-٤٣١٤.

Proctor, J.T.A. (١٩٩٦). Ginseng. Old Crop, New Directions. J. Janick, Progress in new Crops.. ٥٦٥-٥٧٧.

Raulanguiz A. and Carlosmartin. N. (١٩٨٩). Anastomosis groups, pathogenicity and other characteristics of *Rhizoctonia solani* isolated from potatoes in peru plant Dis. ٧٣: ١٩٩-٢٠١.

Roos, D.J. (١٩٦٠). Physiological studies of some common Fungi from grass land soils. New Zoaland. J. Sci. ٣: ٢١٩-٢٥٧.

Schaceterle, G.R. and. Pollack R.H (١٩٧٣). A simplified method for the quantitative assay of small amounts of proteins in biologic material. Anal. Biochem., ٥١, ٦٥٤-٦٦٥.

Sharma, R.C.; Gill, S.S; Joshi, D.P. and Bharaj, T.S. (٢٠٠٠). Management of *Fusarium* sheath rotin cytoplasmic male sterile lines of rice. Indian phytopathology. ٥٣: ٢٩٦-٣٠٠.

Sherwood, R.T. (١٩٧٠). Physiology of *Rhizoctonia solani* In: *Rhizoctonia solani* Biology and pathology ed: parmeter J.R. University of California Press. Berkeley, Los Angeles. P: ٦٩-٩٢.

Singh, R.S. (١٩٨٧). Introduction to principles of plant pathology, third edition. P. ٧٥.

Somogyi, M & Nelson, N. (١٩٥٢). Notes on sugars determination. J. Biol. Chem. ١٩٩٥: ١٩-٢٣.

Stephens, C.T.; Herr, L.J.; Sehmitthenner, A.F. and Powell, C.C. (١٩٨٣). Sources of *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. In abedding plant green house. Plant Dis. ٦٧: ٢٧٢-٢٧٥.

Stromme, L. and County, H.(١٩٩٩).Damping-off plant health care up date ٢:٢

Stryer, L. (٢٠٠٠). Biochemistry. ٤th ed. Printed in the United States of America.

Szegi, D. (١٩٧٧). Soil Biology and conservation of the Biosphere Akademiai Kiado, Budapest.

Taj-Aldeen, S.J. (١٩٩٣). Effect of starch on the induction of β-glucosiclase in *Trichoderma reesei* Rut C ٣٠. Mycological Research. The international of fungal Biology ٩٧. p: ٣١٨-٣٢٠.

Takasuka, T. (٢٠٠٠). Amino acid- or protein dependent growth of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichphyton rubrum*. FEMS Immnuology and Medical Microbiology; ٢٩: ٢٤١-٢٤٣.

Taneja, M. and Grover, R.K. (١٩٨٢). Efficacy of Benzimidazol and related fungicides against *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*. *babaticola*. Ann. Appl. Biol. ١٠٠: ٤٢٥-٤٣٢.

Tangnu, S.K.; Blanch, H.W. and Wilke, C.R. (١٩٨١). Enhanced production of cellulose, hemi cellulose, and *B*-glucosidase by *Trichoderma reesei* Rut C٣٠. Bio technol. Bioeng. ٢٣:١٨٣٧-١٨٤٩.

Tolba, M.K. and Moubasher, A.H. (١٩٦٤). Further studies on the Influence of the origin of isolate of *Rhizoctonia* on its pathogenicity. J. Botany ٤.٧: ١-٢٠.

Vincelli, P.G. and Beaupre, C.M.S. (١٩٨٩). Comparesion of media for isolating *Rhizoctonia solani* from soil. Plant Disease, ٧٣:١٠١٤-١٠١٧.

Virk, K.S. and Grover, R.K. (١٩٧٥). Fungi toxic studies with thiophanate Methyl invitro and in vivo Indian J. Mycol. Plant path. ٥: ٧٩-٨٥.

Wicks, T.; Hall, B. and Thrum, R. (٢٠٠١). *Rhizoctonia* or Black scurf on potatoes. Hort. Culture. Sardi South Australian research and development institute, plant research center. Hartly Grove, Urrbrae South Australia ٥٠٦٤.

Williams, B.L. and Wilson, K. (١٩٧٥). Principles and Techniques of practical Biochemistry.

Yada, A.S. and Masashi, I. (١٩٨٣). Effects of Mixing fungicides in the coating layer of the coated seeds on the control of seedling damping-offin Chinese cabbage. ٧٧: ٣٣٣٥.