

التكامل بين معاملة بذور الزينيا بمحلول PEG ومعاملة التربة بمستخلص الشمبلان والبايوميون في السيطرة على الفطر *Fusarium culmorum* المنقول بالبذور

كامل سلمان جبر

رحمن عيسى سعيد*

أستاذ

مدرس مساعد

قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد

Kamil_s_juber@yahoo.com

rahmanissa52@gmail.com

المستخلص

نفذت هذه الدراسة لتقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية والمبيد Beltanol في مكافحة الفطر *Fusarium culmorum* المرافق لبذور الزينيا واختبار مقدرته الامراضية. بينت النتائج ظهور الفطر في 27.2% من العينات وبمعدل تكرار 7.59%. اظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية بطريقة ورق النشاف أن العزلات الخمس المختبرة لهذا الفطر احدثت خفضا معنويا (0.05) في نسبة إنبات بذور الزينيا واعطت العزلة A33 أعلى نسبة خفض في الإنبات بلغت 19%. بينت النتائج المختبرية أن مستخلص البايوميون بتركيز 12% اعطى أعلى نسبة تثبيط للعزلة A33 التي بلغت 75.5% تلاه مستخلص الشمبلان بتركيز 2000 ملغم/لتر إذ اعطى 59.9% بينما لم يؤثر مستخلص اللوتس *Nymphaea nouchali*. ظهر من إختبار تقييم فعالية مستخلصي الشمبلان والبايوميون والمبيد بلتانول إنها احدثت خفضا معنويا في نسبة وشدة المرض للعزلة A33. حققت معاملة الفطر + المبيد أعلى خفض معنوي في نسبة وشدة المرض إذ بلغت 22.5% و 11% مقارنة بمعاملة القياس التي اعطت 92.5% و 90% بالتتابع. لم تظهر فروق معنوية في نسبة وشدة المرض بين المستخلصين والمبيد ولا بين معاملي المستخلصين. تفوق المستخلصان على المبيد في احداث زيادة معنوية في الوزن الرطب والجاف للنباتات مع هذه العزلة، وفي إختبار تقييم فعالية التكامل بين معاملة البذور بمحلول PEG والتربة بالمستخلصين، لدت جميع المعاملات إلى إحداث خفض معنوي في نسبة وشدة المرض للفطر. احدثت معاملة البذور بمحلول PEG سواء كان لوحده أم مع أحد المستخلصين خفضا معنويا في نسبة وشدة المرض إلا أن هذا الخفض كان أقل من الخفض الحاصل في المعاملات التي لم يستخدم فيها PEG.

الكلمات المفتاحية: المقدرة الامراضية، نسبة المرض، شدة المرض، بلتانول.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(1): 1-10, 2015

Saeed & Juber

INTEGRATION BETWEEN ZINNIA SEEDS OSMOPRIMING WITH PEG SOLUTION AND SOIL TREATMENT WITH COONTAIL AND BIOIMMUNE EXTRACTS TO CONTROL *FUSARIUM CULMORUM* TRANSMITTED BY SEEDS

R. I. Saeed*

K. S. Juber

Assist. Instructor

Prof.

Dept. of Plant Protection – Coll. of Agric. – Univ. of Baghdad

rahmanissa52@gmail.com

Kamil_s_juber@yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the efficiency of some plant extracts and Beltanol to control the *Fusarium culmorum* with Zinnia seeds, and test its pathogenicity. Results showed the existence of fungus in 27.2% of seed samples with 7.59% mean frequency. Pathogenicity test by using blotter method showed that all the 5 isolates caused a significant reduction (0.05) in Zinnia seeds germination. Isolate A33 gave the highest decrease in percentage germination (19%). Laboratory result showed that the Bioimmune extract 12% caused the highest growth inhibition of isolate A33 (75.5%) followed by coontail extract 2000 mg/L (59.9%) while lotus *Nymphaea nouchali* extract did not give any effect. It was found that the Coontail, Bioimmune and Beltanol caused a significant reduction in disease incidence and severity. Beltanol + A33 treatment gave the highest significant decrease in percentage of disease incidence and severity, it was 22.5% and 11% compared with 92.5% and 90% in the control treatment respectively. There were not significant differences in the disease incidence and severity between the two extracts and Beltanol and extracts themselves. The two extracts gave superior significant increase in fresh and dry weight compared with Beltanol treatment. Seed treatment with PEG solution caused a significant reduction in disease incidence, but it was less than reduction in treatments without PEG.

Key words: Pathogenicity, disease incidence, disease severity, Beltanol.

*Part of M.Sc. thesis of first author

المقدمة

نبات الزينيا *Zinnia elegans* Jacq يتبع إلى العائلة النجمية Asteraceae وهو نبات حولي ذو أزهار جميلة ذات ألوان زاهية (25 و 36)، ويعد واحداً من نباتات الأزهار الشائعة صيفاً وخريفاً والأكثر شعبية في مختلف انحاء العالم (25 و 29)، وتعد الفطريات المرافقة للبذور من أهم مسببات المرضية على هذا النبات إذ تؤدي إلى تعفن البذور وعدم إنباتها، وموت البادرات قبل البزوغ وبعده وتقرح الجذور وإصابة الأجزاء الخضرية والزهرية من النبات بأنواع التبقع والتقرح والذبول والموت (6 و 8 و 10 و 14 و 23 و 28)، وتصاب نباتات الزينيا في مراحل نموها المختلفة بأنواع مختلفة من الجنس *Fusarium* التي تسبب لها تعفن البذور وموت البادرات قبل البزوغ وبعده وتعفن الجذور وقواعد السيقان، ويعد الفطر *Saccarado (Smith) culmorum Fusarium* واحداً من هذه الفطريات التي تنتقل عن طريق البذور وتصيب الجذور، كما أنه ذو مدى عائلي واسع (21)، وقد اشار Desjardins (5) إلى إصابة بادرات الزينيا بهذا الفطر في البيت الزجاجي، واشير في بعض الدراسات إلى أنه يسبب تعفن منطقة التاج (14) ويعد أحد أربعة فطريات مهمة تلحق الضرر بنباتات الزينيا في الحدائق العامة ببولندا (31)، وقد استعملت المبيدات الكيماوية للحد من الإصابة بهذا الفطر مثل Thiram و Carbidazin و Sarfun T65 (34) و (39) إلا أن المبيدات الفطرية الكيماوية تسبب سلسلة من المشاكل البيئية الخطيرة، وذات تأثير سام على الكائنات الحية غير المستهدفة، فضلاً عن نشوء المقاومة ضدها في مسببات المرضية (24)، لذلك إتجه الباحثون للكشف عن طرائق ومواد صديقة للبيئة ومن تلك الطرائق معالجة البذور *seed priming* التي تعد طريقة آمنة ورخيصة في مكافحة الأمراض المتسببة عن فطريات البذور ومنع تدهورها الحيوي (37)، واستعمال مستخلصات بعض النباتات التي اظهرت كفاءة عالية في مقاومة مسببات المرضية ولاسيما الفطرية، إذ انها متوفرة ورخيصة وسهلة التحضير (12). كما اتخذت بعض الأساليب والتقنيات التي من شأنها الاسراع في عملية الإنبات وتنظيمها لتوفير مخرج للهروب من الإصابة كاستخدام (PEG) polyethylene glycol (29 و 33). لذلك هدفت هذه الدراسة إلى استخدام أسلوب التداخل والتكامل بين معالجة

بذور الزينيا بمحلول PEG ومعاملة التربة بمستخلص الشمبلان والبايوميون في مكافحة الفطر *F. culmorum* المنقول ببذور الزينيا والحد من تأثيره الضار.

المواد والطرائق

عزل الفطر وتشخيصه

جمعت سبع عينات من بذور الزينيا *Zinnia elegans* Jacq من سبع مناطق في بغداد للفترة من 2012/7/2 حتى 2012/10/17 ووضعت كل عينة في كيس من البولي اثيلين سجل عليه اسم منطقة الجمع وتأريخ الجمع وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 م° لحين اجراء العزل منها. كذلك تم الحصول على 4 عينات من بذور الزينيا المستوردة غير المعفرة التي يمتد تأريخ صلاحيتها إلى عام 2017 (جدول 1).

جدول 1. مكان وزمان جمع عينات بذور الزينيا

رقم العينة	المنطقة	المنطقة	تاريخ الجمع
1	محلي	كلية الزراعة / ابو غريب	2012/07 /02
2	محلي	حي البنوك	2012/07 /14
3	محلي	الزعفرانية	2012/08 /03
4	محلي	الكريعات	2012/08 /11
5	محلي	مدينة الصدر	2012/09 /08
6	محلي	الدورة	2012/10 /07
7	محلي	الزوراء	2012/10 /17
8	Pink zinnia	مستورد	2012/12 /03
9	Red zinnia	مستورد	2012/12 /03
10	Yellow zinnia	مستورد	2012/12 /03
11	Pompon liliput	مستورد	2013/02 /01

ملاحظة : البذور المستوردة غير معفرة .

عقمت 400 بذرة من كل عينة سطحياً بمحلول هايبيكلوريت الصوديوم (1 % كلور حر) لمدة دقيقتين. بعدها غسلت بالماء المعقم وجففت بورق ترشيح معقم، وزرعت في أطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط الزراعي أكار الديكستروز والبطاطا (PDA) Potato Dextrose Agar (PDA) بمقدار 10 بذور/طبق. حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 2 لمدة 4-5 أيام. نقيت المستعمرات الفطرية النامية حول البذور بزرعها على PDA بطريقة البوغ المنفرد، وحضنت في درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة 7 أيام. شخخص الفطر إلى مستوى النوع اعتماداً على شكل المستعمرة وطبيعة نموها وشكل وتركيب الأبواغ وطريقة حملها والتراكيب الأخرى التي يكونها الفطر وبالإستعانة بالمفاتيح التصنيفية المعتمدة (4 و 7)، وتم حساب النسبة المئوية لتكرار الفطر في كل عينة على وفق المعادلة الآتية:

Ceratophyllum والبايوميون *Bioimmune* واللويس *(Lotus Nymphaea nouchali)*، جُمع نبات الشمبلان كاملاً من منطقة اليوسفية، وأوراق اللوتس من منتزه الزوراء ببغداد في أكياس بولي إثيلين، وجففت العينات داخل المختبر مع تقليبها بصورة مستمرة للحيلولة دون تعفنها. سحقت العينات بإستعمال مجرشة ذات غربال بحجم 1.5 مم. جمع مسحوق كل من النباتين في أكياس بولي إثيلين مثبت عليها إسم النبات ووزنه وتاريخ الجمع، وحفظ على درجة حرارة - 20 م° لحين الاستخدام. الشمبلان نبات مائي مغمور لا توجد لديه جذور ويشكل مستعمرات كثيفة تغطي مساحات واسعة من المسطحات المائية ويمكن أن يبلغ طول الساق أكثر من 15 قدماً (13) وظهر من تحليل هذا النبات أنه يحتوي على العديد من المركبات الفينولية المضادة لنمو المسببات المرضية (3 و 26). اللوتس أو زنبق الماء يتبع العائلة *Nymphaeaceae* موطنه الأصلي شبه القارة الهندية وأستراليا وتنمو جذوره سيقانه داخل الماء وتطفو أوراقه وأزهاره فوق سطح الماء (22)، وظهر في التحليل الكيماوي لأوراقه وجود السترويدات والفلافونيدات والتانينات وغيرها من المركبات المضادة لنمو ونشاط الكائنات المجهرية (26). تم الحصول على مستخلص البايوميون من شركة الريف الخضراء للتجارة العامة ببغداد وهو عبارة عن مستخلص لبعض الاشنات البحرية ويعد مادة طبيعية تستخدم لمكافحة الأمراض الفطرية ويتصف أنه صديق للبيئة ولا يحتاج إلى مدة أمان حسب الشركة المذكورة، وتم استخلاص كل من الشمبلان واللويس باتباع طريقة Anessiny و Perez (2)، إذ وضع 100 غم من مسحوق كل نبات في دورق زجاجي حجم 1 لتر، وضيف إليه 500 سم³ كحول إثيلي بتركيز 70% وترك لمدة 24 ساعة بعدها رسب المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة للدقيقة الواحدة لمدة 15 دقيقة، ورشح المستخلص بإستعمال قمع بخنر حاو على ورق ترشيح Whatman No.1. أُعيد الاستخلاص مرتين وجمع الراشح الكلي وركز بجهاز المبخر الدوار *evaporator Rotary* عند درجة حرارة 40 م° للتخلص من المذيب، فتكون مستخلص كثيف القوام وزنه 6.23 غم للشمبلان و5.98 غم لللويس ووضعا في المجمدة (-20 م°) لحين الإستعمال، وحضر محلول أساس (stock solution) من

% لتكرار الفطر = عدد البذور التي نما عليها الفطر مقسوماً على العدد الكلي للبذور معبراً عنها بنسبة مئوية
وتم حساب النسبة المئوية لظهور الفطر في العينات على وفق المعادلة الآتية:

% لظهور الفطر = عدد العينات التي ظهر فيها الفطر مقسوماً على العدد الكلي للعينات معبراً عنها بنسبة مئوية
اختبار مقدرته الامراضية على بذور الزينيا بأستعمال طريقة ورق النشاف

لاجراء هذا الاختبار انتخبت 5 عزلات للفطر *culmorum F. (A33 و B6 و B11 و B29 و H17)* (جدول 2)، فضلا عن معاملة السيطرة، ويهدف هذا الاختبار إلى معرفة تأثير هذه العزلات الفطرية في إنبات بذور الزينيا بأستعمال طريقة ورق النشاف. نمت العزلات الفطرية على الوسط الزراعي PDA، وبعد 7 أيام من عمر المزرعة حضر العالق البوغي بإضافة 10سم³ من الماء المقطر المعقم وبشكل تدريجي لكل طبق بإستعمال فرشاة ناعمة، جمع العالق البوغي لكل عذلة في دورق زجاجي، ورشح خلال طبقتين من قماش الشاش، اضيفت إليه قطرتان من الزيت المعدني Tween 20 لكسر الشد السطحي ومنع تكثف الأبواغ، وحسب تركيز الأبواغ بأستخدام شريحة العد *Haemocytometer* وضبط التركيز على $10^6 \times 1$ بوغ/سم³ لكل عذلة فطرية. غمرت بذور الزينيا صنف Red zinnia بالعالق البوغي لكل عذلة ولمدة نصف ساعة، أما معاملة السيطرة فقد غمرت البذور فيها بالماء المقطر المعقم فقط، بعدئذ زرعت البذور في أطباق يحتوي كل طبق على 3 أوراق نشاف مرطبة وبمقدار 25 بذرة لكل طبق وبعد أسبوع حسب عدد البذور النابتة ومنها حسبت النسبة المئوية للإنبات.

جدول 2. العزلات التي اختبرت إمراضيتها بطريقة ورق النشاف

رقم عينة العذلة	العذلة
1	A33
2	B6
2	B11
2	B29
8	H17

تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الفطر

إستخدم في هذا الاختبار المستخلص الكحولي لكل من نباتات الشمبلان المائي (*demersum L.*) Coontail

سجلت النتائج بعد 7 أيام من الحضان بقياس القطرين المتعامدين لكل مكرر من مكررات كل معاملة، وحسبت النسبة المئوية للتثبيط على وفق المعادلة الآتية:

%التثبيط = (متوسط قطر معاملة المقارنة - متوسط قطر معاملة المعاملة) مقسوماً على متوسط قطر معاملة المقارنة معبراً عنها بنسبة مئوية.

تقييم فعالية مستخلص الشمبلان والبايوميون والمبيد Beltanol في حماية النبات من الإصابة بالفطر

عقمت تربة مزيجية ويتموس (2 : 1 حجم/حجم) بالموصدة عند درجة حرارة 121 م° وضغط 1.5 كغم/سم². كرر التعقيم مرتين خلال أسبوع ولمدة 60 دقيقة في كل مرة. وزعت التربة في اصص قطر 17 سم بمقدار 1200 غم تربة/اصيص واضيف لقاح العزلة A33 للفطر *culmorum*. F. المنمى على بذور الدخن المحلي الى التربة بنسبة 1% (وزن/وزن). أما في معاملة السيطرة فقد اضيفت إلى التربة بذور دخن معقمة وخالية من الفطر. كررت كل معاملة 4 مرات. رطبت الاصص وغلفت بأكياس البولي أثيلين المثقب لمدة 3 أيام. بعد ذلك اضيف المستخلص الكحولي للشمبلان تركيز 2000 ملغم/لتر ومستخلص البايوميون تركيز 12 % والبلتانول بتركيز 0.1% وبمقدار 40 سم³/أصيص وبعد 3 أيام زرعت الاصص ببذور الزينيا *Red zinnia* المعقمة سطحياً بمقدار 10 بذور/اصيص، وسقيت بحذر وغلفت باكياس البولي اثيلين المثقب. بعد مرور 3 أيام أخرى رفعت الأكياس ووضعت الاصص في البيت الزجاجي عند درجة حرارة 20-27 م° على وفق التصميم تام التعشية، وقد تضمنت التجربة المعاملات الآتية:

- 1- العزلة A33 + مستخلص الشمبلان.
- 2- العزلة A33 + مستخلص البايوميون.
- 3- العزلة A33 + المبيد Beltanol.
- 4- العزلة A33 بمفردها.
- 5- سيطرة من دون فطر أو متخلص أو مبيد.

بعد 45 يوماً من الزراعة سجلت النتائج بحساب نسبة وشدة المرض وقدر المرض باستخدام الدليل المرضي الذي وضعه Kiecana و Mielncizuk (14) مع ادخال بعض التحوير عليها وهو: 0 = النبات سليم و 1 = تلون يمتد إلى ثلث الجذر و 2 = تلون أكثر من ثلث الجذر وحتى النصف و 3 =

كل مستخلص بتركيز 20000 ملغم/لتر عن طريق إذابة 1 غم من كل مستخلص في 50 سم³ ماء مقطر معقم. استخدم كل من المستخلصين بتركيز 1000 و 2000 ملغم/لتر من خلال اخذ 12.5 سم³ و 25 سم³ من المحلول الأساس و اضيف إلى 237.5 سم³ و 225 سم³ من الوسط الزرعي PDA المعقم والمبرد بالتتابع، وقد تم حساب النتائج على وفق المعادلة الآتية:

$$C_1 \times I_1 = C_2 \times I_2$$

إذ أن:

1ح: الحجم الأول.

1ت: التركيز الأول.

2ح: الحجم الثاني.

2ت: التركيز الثاني

$$1 - 1000 \times 250 = 20000 \times C_1$$

$$C_1 = 12.5 \text{ سم}^3$$

$$2 - 2000 \times 250 = 20000 \times C_1$$

$$C_1 = 25 \text{ سم}^3$$

استخدم مستخلص البايوميون بثلاثة تراكيز (1% و 6% و 12%). اضيف كل مستخلص مع الوسط الزرعي PDA المعقم والمبرد إلى درجة حرارة 45 م° بالتركيز المطلوب، صب الوسط في أطباق معقمة قطر 9 سم. بعد تصلب الوسط لقحت الأطباق في مركزها بقرص قطر 5 ملم من الوسط الزرعي PDA الحاوي على نموات العزلة A33 للفطر التي ثبتت امراضيتها العالية في الاختبار السابق. استخدمت 4 مكررات لكل معاملة، كما استخدمت 4 أطباق لقحت بالفطر بمفرده، ووضعت الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ± 2 م° على وفق التصميم تام التعشية، وقد جرى تنفيذ المعاملات الآتية:

- 1- العزلة A33 بمفردها.
- 2- مستخلص الشمبلان 1000 ملغم/ لتر + A33.
- 3- مستخلص الشمبلان 2000 ملغم/لتر + A33.
- 4- مستخلص اللوتس 1000 ملغم/لتر + A33.
- 5- مستخلص اللوتس 2000 ملغم/لتر + A33.
- 6- المستحضر الحيوي البايوميون 1 % + A33.
- 7- البايوميون 6 % + A33.
- 8- البايوميون 12 % + A33.

بمحلول PEG فقط (من دون فطر أو مستخلص) و 6- بذور غير معاملة بفطر أو مستخلص. بعد 45 يوماً من الزراعة سجلت النتائج بحساب نسبة وشدة المرض على وفق ما متبع في الاختبار السابق.

النتائج والمناقشة

عزل الفطر وتشخيصه

سجل الفطر *Fusarium culmorum* ظهوراً في 3 عينات من مجموع 11 عينة وهي الأولى والثانية والثامنة، أي أنه ظهر في 27.3% من العينات المدروسة، وبمعدل تكرار قدره 7.59%، وكان أعلى تكرار له في العينة رقم 2 التي جمعت من حي البنوك وهو 17.25%، وقد اشار Neergard (21) إلى هذا الفطر كأحد الأنواع الفطرية المرافقة للبذور وينتقل على سطحها وأنه ذو مدى عائلي واسع ويصيب المنظومة الجذرية، و اشار Desjarins (5) إلى اصابته لبادرات الزينيا تحت ظروف البيت الزجاجي، كما وجد Kiecana و Mielniczuk (14) أنه يسبب تعفن منطقة التاج، فيما وجد Szopinska (31) أنه احد أربعة فطريات مهمة تلحق الضرر الشديد بنباتات الزينيا في الحدائق العامة ببولندا، ويعد تسجيل هذا الفطر على نباتات الزينيا الأول في العراق. اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر على بذور الزينيا بأستعمال طريقة ورق النشاف

ظهر من نتائج هذا الاختبار الذي اجري لمعرفة تأثير العزلات الخمس لهذا الفطر المرافق لبذور الزينيا بطريقة ورق النشاف أن جميع هذه العزلات احدثت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لإنبات بذور الزينيا قياساً بمعاملة السيطرة (جدول 3)، وقد تراوحت نسبة الانبات في معاملات هذه العزلات بين 19-84% قياساً بمعاملة السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 98% واعطت العزلة A33 أعلى نسبة خفض في الإنبات إذ كانت نسبة الإنبات في معاملتها 19%، في حين اعطت العزلة H17 أقل نسبة خفض في الإنبات بلغت 84% (شكل 1) على الرغم من أن نسبة الخفض في إنبات بذور الزينيا لمعظم عزلات هذا الفطر ليست عالية، إلا أنها تعد مهمة حقلياً، فضلاً عن تأثير بعض الفطريات والمسببات الأخرى في المراحل اللاحقة من عمر النبات، وتأثيرها في المجموع الخضري والجذري وانعكاس ذلك على معدل نمو النبات وتزهيره (14). قد يعزى التباين في تأثير العزلات في

= تلون أكثر من نصف الجذر و 4 = تلون كامل الجذر مع قاعدة الساق وظهور بقع بنية على الأوراق و 5 = موت النبات، وقدرت النسبة المئوية لشدة المرض على وفق معادلة Mckinney (18):

$$\% \text{ لشدة المرض} = (\text{عدد النباتات من الدرجة } 0 \times 0 + \dots + \text{عدد النباتات من الدرجة } 5 \times 5) \text{ مقسوماً على (العدد الكلي للنباتات} \times 5) \text{ معبراً عنها بنسبة مئوية}$$

كما حسب الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري للنبات.

تقييم كفاءة التكامل بين معاملة بذور الزينيا بالـ PEG والتربة بمستخلصي الشمبلان والبايوميون في مكافحة الفطر *F. culmorum*

عوملت 200 بذرة بمحلول البولي اثيلين كلايكول واخضعت لعملية التحضير أو التكييف Osmopriming. حضرتت 4 أطباق بتري قطر 9 سم ووضع في كل طبق 3 أوراق ترشيح، صب في كل طبق 5 سم³ من محلول البولي اثيلين كلايكول (PEG) 6000 ذي قوة تناضحية - 1.0 ميغا باسكال (20). وضع في كل طبق 50 بذرة من بذور الزينيا وختمت الأطباق بالشمع ووضعت في حاضنة مظلمة عند درجة حرارة 20 ± 2م° لمدة 5 أيام. بعد ذلك اخرجت البذور من الأطباق وغسلت بماء الحنفية وغمرت في ماء مقطر معقم ثلاث مرات لإزالة آثار PEG. جففت البذور سطحياً بورق النشاف. اضيف لقاح العزلة A33 المنمأة على بذور الدخن إلى الاصص الحاوية على تربة معقمة على وفق ما ذكر في الاختبار السابق. رطب الاصص وغلفت بأكياس البولي أثيلين المثقب لمدة 3 ايام، بعدها اضيف المستخلص الكحولي للشمبلان تركيز 2000 ملغم/لتر، ومستخلص البايوميون تركيز 12% بمقدار 40 سم³ لكل أصيص. بعد مرور 3 أيام زرعت الاصص ببذور الزينيا التي سبق أن عوملت بمحلول البولي اثيلين كلايكول بمقدار 10 بذور لكل أصيص، و 4 أصص لكل معاملة. وضعت الاصص في البيت الزجاجي عند درجة حرارة 20 - 27 م° على وفق التصميم تام التعشية. نفذت التجربة بالمعاملات الآتية: 1- بذور معاملة بمحلول PEG + العزلة A33 + مستخلص الشمبلان و 2- بذور معاملة بمحلول PEG + العزلة A33 + المستخلص البايوميون و 3- بذور معاملة بمحلول PEG + العزلة A33 و 4- العزلة A33 بمفردها و 5- بذور معاملة

مع البيانات التي قدمتها شركة الريف الخضراء عن المستخلص بايوميون والتي اشارت إلى فعالية هذا المستخلص ضد المسببات المرضية الفطرية. اما بالنسبة للشمبلان فإنه لم يستعمل سابقا كمادة مثبطة لنمو الفطريات، وظهور هذا المستوى المهم من التثبيط للفطر *F. culmorum* يؤكد وجود مواد مثبطة في هذا المستخلص وهذا ما اكدته الدراسات التي اجريت لتحليل هذا النبات كيميائيا فظهر أنه يحتوي على نسبة مهمة من القلويدات والكلايكوسيدات والفلافونيدات والمركبات الفينولية المثبطة لنمو مختلف أنواع الفطريات (16 و26).

جدول 4. تأثير المستخلصات النباتية في نمو العزلة A33

المعاملات	نسبة التثبيط (%)
مستخلص الشمبلان 1000 ملغم / لتر	36.48
مستخلص الشمبلان 2000 ملغم / لتر	59.90
مستخلص اللوتس 1000 ملغم / لتر	0.00
مستخلص اللوتس 2000 ملغم / لتر	0.00
المستخلص الحيوي البايوميون 1%	0.00
البايوميون 6%	20.25
البايوميون 12%	75.50
السيطرة (العزلة بمفردها)	0.00
L.S.D 0.05	3.15

تقييم فعالية مستخلص الشمبلان والبايوميون والمبيد بلتانول في حماية النباتات من الإصابة بالفطر احدث مستخلصا الشمبلان والبايوميون خفضا معنويا في نسبة وشدة المرض للعزلة A33 (جدول 5) قياسا بمعاملة السيطرة (الفطر بمفرده)، وحققت معاملة الفطر + المبيد أعلى خفض في نسبة وشدة المرض إذ بلغتا 22.5% و11% تلتها معاملة الفطر + شمبلان 25% و15.25% ثم الفطر + بايوميون 27.5% و16% قياسا بمعاملة السيطرة إذ بلغتا فيها 92.5% و90% بالتتابع، ولم تظهر فروق معنوية بين المستخلصين والمبيد ولا بين المستخلصين في نسبة وشدة المرض، وحدث مستخلصا الشمبلان والبايوميون والمبيد زيادة معنوية في الوزن الرطب والجاف للنباتات قياسا بمعاملة السيطرة (الفطر بمفرده)، وتفوق المستخلصان على المبيد إحداث زيادة معنوية في الوزن الرطب والجاف للنباتات مع هذه العزلة، إذ بلغ معدل الوزن الرطب في معاملة الفطر + مستخلص بايوميون 1.05 غم ثلته معاملة الفطر + مستخلص الشمبلان 0.985 غم ثم المبيد 0.435 غم قياسا

نسبة إنبات بذور الزينيا إلى الاختلاف الوراثي بين العزلات (1) والذي ربما يؤدي إلى الاختلاف في افراز الأنزيمات المحللة لخلايا العائل أو افراز المواد الايضية ذات تأثير السام التي تؤدي إلى فشل الإنبات (15).

جدول 3. تأثير عزلات الفطر *F. culmorum* في إنبات

بذور الزينيا

العزلة	النسبة المئوية للإنبات
A33	19
B6	62
B11	70
B29	64
H17	84
السيطرة	98
L.S.D 0.05	7.91



معاملة القياس



H17



A33

شكل 1. تأثير العزلتين A33 و H17 في إنبات بذور الزينيا تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الفطر

اوضحت نتائج هذا الاختبار الذي جرى على العزلة A33 (جدول 4) أن المستخلص الحيوي Bioimmune تركيز 12% احدث أعلى نسبة تثبيط للعزلة A33، وكانت هذه النسبة 75.5% قياساً بمعاملة السيطرة تلاه مستخلص الشمبلان تركيز 2000 ملغم/لتر إذ كانت هذه النسبة 59.9%، بينما لم يحدث مستخلص اللوتس بتركيزه 1000 و2000 ملغم/لتر اي تثبيط لهذه العزلة. اتفقت هذه النتائج

والفلافونيدات Flavonids والكلايكوسيدات Glycosides والفينولات Phenols وغيرها (3 و 16 و 17 و 26) وهذه المركبات بأجمعها مثبطة لنمو الفطريات والمسببات المرضية الأخرى (35).

تقييم فعالية التكامل بين معاملة بذور الزينيا بالـ PEG ومعاملة التربة بمستخلصي الشمبلان والبايوميون

أدت جميع المعاملات إلى إحداث خفض معنوي في نسبة وشدة المرض الذي تحدثه العزلة A33 قياساً بمعاملة السيطرة (الفطر الممرض بمفرده) (جدول 6)، ولم تظهر فروق معنوية في نسبة وشدة المرض بين معاملي الفطر + شمبلان والفطر + بايوميون كما في الاختبار السابق، ومع أن معاملة البذور بمحلول PEG سواء كان لوحده أو مع المستخلصين قد أحتت خفصاً معنوياً في نسبة وشدة المرض لهذه العزلة قياساً بمعاملة السيطرة إلا أن هذا الخفض كان أقل من الخفض الحاصل في المعاملات التي لم تستخدم فيها بذور معاملة بـ PEG فقد تفوقت معنوياً المعاملات التي استخدم فيها مستخلص الشمبلان والبايوميون في خفض نسبة وشدة المرض على معاملات البذور المعاملة بـ PEG مع هذه العزلة، إذ بلغت نسبة وشدة المرض مع الشمبلان 30% و 20.5% ومع البايوميون 25% و 19% بالتتابع قياساً بمعاملة السيطرة (الفطر بمفرده) إذ بلغت فيها 95% و 91.5%. كما أظهرت النتائج تفوق معاملة الفطر + PEG معنوياً على معاملة الفطر + PEG + بايوميون في خفض نسبة وشدة المرض إذ بلغت 55% و 51.23% قياساً بمعاملة الفطر + PEG + بايوميون إذ بلغت فيها 70% و 66.25% بالتتابع، ولم تظهر فروق معنوية بين معاملة الفطر + PEG ومعاملة الفطر + PEG + شمبلان، وبينت النتائج (جدول 6) أن جميع المعاملات المستعملة حققت زيادة معنوية في مؤشرات النمو متمثلة في الوزن الرطب والجاف للنباتات المعاملة قياساً بمعاملة الفطر بمفرده، وقد تفوقت معاملة الفطر + شمبلان، والفطر + بايوميون معنوياً في زيادة الوزن الرطب والجاف للنباتات على معاملات الفطر + PEG إذ بلغ وزن الرطب والجاف لهذه المعاملات مع الشمبلان 0.985 غم و 0.082 غم ومع البايوميون 1.124 غم و 0.094 غم قياساً بمعاملة الفطر + PEG إذ بلغت فيها 0.69 غم و 0.045 غم بالتتابع، ولم تظهر فروق معنوية في

بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل الوزن الرطب فيها 0.285 غم، وبلغ معدل الوزن الجاف في معاملة الفطر + مستخلص البايوميون 0.090 غم ثلثة معاملة الفطر + مستخلص الشمبلان 0.087 غم ثم المبيد 0.037 غم قياساً بمعاملة السيطرة 0.022 غم، ولم تظهر فروق معنوية في الوزن الرطب والجاف بين معاملات المستخلصين. إن إنخفاض نسبة وشدة المرض معنوياً وكذلك زيادة الوزن الرطب والجاف معنوياً في جميع المعاملات التي استخدم فيها مستخلصا الشمبلان والبايوميون والمبيد يدل على كفاءة المستخلصين في الحد من الإصابة بالفطريات الممرضة فضلاً عن المبيد بلتانول الذي أثبتت الدراسات السابقة أنه ذو كفاءة عالية في السيطرة على الأمراض التي يسببها مدى واسع من الفطريات الممرضة (19).

جدول 5. تأثير مستخلصي الشمبلان والبايوميون والمبيد بلتانول في حماية نباتات الزينيا من الفطر *culmorum*

F.

المعاملة	وزن النبات (غم)		نسبة المرض (%)	شدة المرض (%)
	الجاف	الرطب		
الفطر+شمبلان	0.087	0.985	15.25	25.0
الفطر+البايوميون	0.090	1.050	16.00	27.5
الفطر+المبيد	0.037	0.435	11.00	22.5
الفطر بمفرده	0.022	0.285	90.00	92.5
بذور بمفردها	0.079	0.810	2.500	2.50
L.S.D 0.05	0.012	0.137	7.02	7.78

كما أن مستخلص البايوميون يحتوي على مواد مغذية ومنتشرة للنبات تعمل على رفع كفاءته في مقاومة الفطر الممرض وتقلل من مستوى الإصابة بالأحماض الأمينية والأملاح والعناصر الكبرى والصغرى. كما يحتوي مستخلص الشمبلان على عناصر غذائية وأملاح ومعادن مغذية للنباتات ومنتشرة لها (3) تساعد على مقاومة المسببات المرضية وتقلل من مستوى الإصابة، لأنها تدعمها في بناء نسيج قوي يصعب على الفطر الممرض اختراقه وهذا ما يمكن ملاحظته من خلال الزيادة المعنوية بالوزن الرطب والجاف للنباتات قياساً بالنباتات المعاملة بالمبيد، وربما تعمل هذه العناصر على تعزيز المقاومة الفسيولوجية للنبات من خلال تغيير مسار التفاعلات الحيوية كإنتاج الأنزيمات والمواد الفينولية السامة للفطر الممرض (30)، ويحتوي مستخلص الشمبلان أيضاً على الكثير من المركبات مثل القلويدات Alkaloids والالدهيدات Aldehydes والكيثونات Ketones

له تأثير في أنواع الجنس *Fusarium* لأن محلول PEG ادى إلى نفوذ الفطريات إلى أعماق البذور وأوقف تأثير المستخلص.

المصادر

1. Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair. 1997. Principles of Seed Pathology. CRC Press. Boca Raton. FL. pp. 560.
2. Anessiny, G. and C. Perez. 1993. Screening of plants used a green line. Folk medicine for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol. 39: 119-128.
3. Bankova, V., P. Ivanova, R. Christova and S. Dimitrova. 1995. Secondary metabolites of *Ceratophyllum demersum*. Hydrobiologia. 316: 59-61.
4. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. pp. 237.
5. Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium* Mycotoxins Chemistry, Genetics and Biology, APS. Press. pp. 519.
6. Dimock, A. W. and J. H. Osborn. 1943. An *Alternaria* disease of Zinnia. Phytopathology. 33: 372-381.
7. Domash, K. H., W. Gams and T. Anderson. 2007. Compendium of Soil Fungi. Vol. I. Academic Press. A subsidiary of Harcourt Brace. Jovanovich, Publ. pp. 859.
8. Gambogi, P., E. Triolo and G. Vannacci. 1976. Experiments on the behaviour of the seed-borne fungus *Alternaria zinniae*. Seed Sci. Technol. 4: 333-340.
9. Gross, E. M., D. Erhard and E. Ivanyi. 2003. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* spp. intermedia (wolfgang) Casper. Hydrobiologia. 506: 583-589.
10. Hagan, A. 2009. Diseases of Zinnia in the Landscape and Their Control. Timely Information Agriculture and Natural Resources. Aburn University. pp. 676.
11. Halmer, P. 2004. Methods to improve seed performance in the field. In: Seed Physiology: Applications to Agriculture (Eds. RL Benesch – Arnold, RA Sanchez), Food Product Press, New York, p. 125-166.
12. Hossain, M. M., K. M. Khalequzzaman, F. M. Aminuzzaman, M. R. A. Mollah and G. M. M. Rahman. 2005. Effect of plant extract on

الوزن الرطب والجاف بين معاملة الفطر + PEG ومعاملة الفطر + PEG + شمبلان إذ بلغتا في المعاملة الأخيرة 0.675 غم و 0.040 غم بالتتابع، بينما تفوقت معاملة الفطر + PEG على معاملة الفطر + PEG + بايوميون معنوية في زيادة الوزن الرطب والجاف إذ بلغتا في المعاملة الأخيرة 0.61 غم و 0.033 غم بالتتابع. إن انخفاض نسبة وشدة المرض معنوية وزيادة الوزن الرطب والجاف معنوية في جميع المعاملات التي إستخدم فيها مستخلصا الشمبلان والبايوميون ومحلول PEG قياسا بمعاملة السيطرة دليل على كفاءة هذه المركبات في الحد من الاصابة بالفطريات الممرضة إما عن طريق اضعاف الفطر الممرض وتثبيطة (9)، أو عن طريق الاسراع في إنبات البذور وسرعة هروبها من الاصابة (11).

جدول 6. تأثير التداخل بين مستخلص الشمبلان

والبايوميون ومحلول PEG في حماية نباتات الزينيا من

الفطر *F. culmorum*

وزن النبات (غم)		شدة المرض (%)	نسبة المرض (%)	المعاملة
الجاف	الرطب			
0.045	0.690	51.23	55.0	فطر + PEG
0.040	0.675	55.00	60.0	فطر + PEG + شمبلان
0.033	0.610	66.25	70.0	فطر + PEG + بايوميون
0.082	0.985	20.50	30.0	فطر + شمبلان
0.094	1.124	19.00	25.0	فطر + بايوميون
0.020	0.320	91.50	95.0	الفطر بمفرده
0.080	0.810	5.00	5.00	بذور بمفردها
0.095	0.890	1.25	2.50	بذور + PEG
0.007	0.023	8.07	8.81	LSD 0.05

إن تاخر معاملة الفطر + PEG عن معامليتي الفطر + شمبلان و الفطر + بايوميون في خفض نسبة وشدة المرض وزيادة الوزن الرطب والجاف تتفق مع النتائج التي ظهرت في دراسات باحثين آخرين والتي اشارت إلى زيادة معنوية للاصابة بأنواع الجنس *Fusarium* بعد معاملة البذور PEG لأن ذلك يؤدي إلى اختراق هذه الفطريات لهذه البذور والدخول إلى الجنين مما يوفر لها حماية ويمنع عنها المؤثرات الخارجية ويوقف تأثير المستخلصات (33 و 38). أما عن تفوق معاملة الفطر + PEG على معاملة الفطر + PEG + بايوميون وعدم وجود فروق معنوية بينها وبين معاملة الفطر + PEG + شمبلان في خفض نسبة وشدة المرض وزيادة الوزن الرطب والجاف، فهذا يتفق مع النتائج التي توصل اليها Szopinska (31) والتي اظهرت أن مستخلص الكريب فروت حينما استخدم مع البذور المعاملة بـ PEG فإنه لم يكن

- the incidence of seed-borne fungi of wheat. J. Agric. and Rural Develop. 3(1&2): 39-43.
13. Jose, C. G., W. E. Kelso and D. A. Rutherford. 2004. Spatial distribution of macron vertebrates inhabiting hydrilla and coontail beds in the Atchafalaya Basin. Louisiana . J. Aquat. Plant Manage 42: 85-91.
14. Kiecana, I. and E. Mielniczuk. 2010. Fungi infected the *Zinnia elegans* Jacq .concerning susceptibility of cultivators to selected pathogens. Acta Sci. Pol. Hortorum 9(3): 107-160.
15. Knogge, K. 1998. Fungal pathogenicity. Plant Biol. 1: 324-328.
16. Linn, J. G., R. D. Goodrich, J. C. Meiske and E. J. Staba. 1973. Aquatic plant from Minnesota Part 4 – Nutrient Composition, Water Resource Research Center, University of Minnesota. Bulletin. p. 20-55.
17. Lu, X. 2007 .Study on Chemical Constitutes of *Ceratophyllum demersum* L. M.Sc. Thesis, Northwest Univ. of Sci., Technol. pp. 54.
18. Mckinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture of infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum* J. Agric. Res. 26: 156-217.
19. Meister, R. T. 2000. Farm Chemical Handbook. Listing for Beltanol. Willough by OH 86. pp. 45.
20. Michel, B. E. and M. R. Kaufman. 1973. The Osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol. 51: 914-916.
21. Neergaard, P. 1977. Seed Pathology. Vol.I and II. MacMillan Press, London, pp. 1187.
22. Mohan, M. K., N. K. Sethiya and S. H. Mishra. 2010. A comprehensive review on *Nymphaea*: A traditionally used bitter. J. of advanced Technol., Res. 1: 311-319.
23. Orlikowski, L. B. 2001. Effect of grapefruit extract on development of *Phytophthora cryptogea* and control of foot rot of gerbera. J. of Plant Prot. Res. 41(3): 288-294.
24. Patni, C. S. and S. J. Kolte. 2006. Effect of some botanicals in management of *Alternaria* blight of rapeseed mustard. Ann. Pl. Prot. Sci. 1: 151-156.
25. Pinto, A., T. Rodrigues, I. Leite and J. C. Barbosa. 2005. Growth retardations on development and ornamental quality of potted *Zinnia elegans* Jacq. Sci. Agric. 62(4): 337-345.
26. Pip, E., and K. Philipp. 1990. Seasonal changes in the chemical composition of *Ceratophyllum demersum* L. in small pond. International of Review of Hydrobiol. 75(1): 71-78.
27. Rishikesh, D. R., S. Miah, A. Haque and A. Islam. 2013. Phytochemical and antimicrobial of *Nymphaea nouchali* leaf national flower of Bangladesh J. of Drug Discovery and Therapeutics. 1(8): 64-69.
28. Seehachai, W. 2009. Seed Transmission of *Alternaria zinnia* Causing Leaf Spot in Zinnia. M.Sc. Thesis, Graduate Kasetstart Univ. pp. 64.
29. Shafiei, M. and M. Ghobadi. 2012. The effects of source of priming and post-priming storage duration on seed germination and seedling growth characteristics in wheat (*Triticum aestivum* L.) J. of Agric. Sci. 4(9): 256-268.
30. Singh, A. K., M. B. Pandey and U. P. Singh. 2007. Antifungal activity of an Alkalid Allosecurinine against some fungi. Mycobiology. 35(2): 62-64.
31. Szopinski, D. 2011. Enhancement of Zinnia seeds by osmopriming and grapefruit extract treatment. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 10(2): 33-47.
32. Szopinska, D. and A. Wojtaszek. 2011. Effect of hydropriming on germination and location of fungi in *Zinnia elegans* Jacq. Seeds. Nauka Przyroda Technologie. 6: 1-13.
33. Szopinska, D. and S. Tylkowska. 2009. Effect of osmopriming on germination, vigour and location of fungi in *Zinnia elegans* seeds. Phytopathologia. 54: 33-44.
34. Szopinska, D., H. Dorna and K. Tylkowska. 2007. The effect of grape fruit extract on germination, vigour and health of cabbage, onion and Zinnia seeds. Roczn. AR Pozn. CCCT. XXXIII. Ogron. 41: 631-636.
35. Tabassum, N. and G. M. Vidyasagar. 2013. Antifungal Investigations on plant essential oils. International J. Pharm., Pharmaceutical Sci. 5(2): 19-28.
36. Tusanee, S. 1996. Selection and maintenace of male sterility on Pink Zinnia (*Zinnia elegans*). Special Problem. Kasetastar University. pp. 19.
37. Van der Wolf, J., Y. Birnbaum, P. S. Zouwen and S. P. Groot. 2008. Disinfection of vegetable seed by treatment with essential oils,

- organic acids and plant extracts. Seed Sci. Technol. 36: 76-88.
38. Wei, Y., and H. Dorna. 2006. Effects of priming, fungicide and biological treatments on onion (*Allium cepa* L.) seeds. J. Northwest Sci. Tech Univ. of Agric. 34(1): 54-66.
39. Wojdyta, A. 2001. Grapefruit extract activity in the control of rose powdery mildew and black spot. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent. 66(2): 167-177.