DOI: http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2016.13.3.0413

تقويم فاعلية لقاح الفطر *Agaricus bisporus* في مكافحة الفطر الممرض *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار

طارق عبد السادة كريم درين صفوت جميل بشرى صبير عبدالسادة

البريد الالكتروني: tariqask@yahoo.com

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد

استلام البحث 15 / 10 /2015
قبول النشر 3 /1 /2016

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Licens

الخلاصة:

نفذت هذه الدراسة لاختبار فعالية لقاح الفطر(Spawn) *Agaricus bisporus* بنسبة (0.25 و 0.5 و1)% حجم /حجم في مكافحة الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار. اظهرت النتائج قدرة الفطر *A. bisporus* في حماية بادرات الخيار من الاصابة بالفطر الممرض *P. aphanidermatum* اذ اختلفت جميع معاملات لقاح الفطر الغذائي معنويا بعد 15 يوم من زراعة بذورالخيار عن معاملة الفطر الممرض. كما اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية عن معاملة المقارنة (بدون فطرممرض). واستمر تفوق لقاح الفطر *A. bisporus* في حماية بادرات الخيار بعد 30 و 45 يوم من زراعة بذور الخيار اذ بلغ عدد البادرات (8 ، 7.25 ، 7.75) بادرة في حين كانت عند معاملة الفطر الممرض 5.5 بادرة بعد 45 يوم . كما ان اعلى شدة للمرض (4.5) مع الدليل المرضي (90%) كانت عند معاملة الفطر الممرض *P. aphanidermatum* والتي اختلفت معنويا عن جميع المعاملات الاخرى. في حين استطاعت معاملات لقاح الفطر *A. bisporus* وبالنسب المختبرة (0.25 و 0.5 و1)% من خفض شدة المرض والدليل المرضي بنسبة 22 % عن معاملة الفطر الممرض. وبينت النتائج ان المعاملات المستعملة في مكافحة الفطر الممرض *P. aphanidermatum* حققت زيادة معنوية في مؤشرات النمو متمثلة في طول النبات والبالغة (30، 31، 30.3) سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض (22.3) سم وانعكست هذه النتائج على الوزن الرطب اذ اختلفت معاملات لقاح الفطر والبالغة (16.92، 18.85، 19.55) غم على التوالي معنويا عن معاملة الفطر الممرض (12.61)غم. فضلا عن الاختلاف المعنوي لمعاملات لقاح الفطر في الوزن الجاف والبالغة (1.75، 2.04، 2.16) غم عن معاملة الفطر الممرض والذي بلغ (1.2)غم.

الكلمات المفتاحية: سقوط البادرات ، لقاح الفطر، شدة المرض، *Pythium aphanidermatum*.

المقدمة:

يعد الفطر الغذائي *Agaricus bisporus* من الفطريات الصالحة للاكل لامتلاكه طعما لذيذا ونكهة مميزة وهو غني بمصادر المضادات الطبيعية ومضادات الاكسدة مما جعله غذاء ودواء [1، 2]. يحوي هذا الفطرعلى نسبة عالية من البروتينات والالياف والسكريات المتعددة فضلا عن احتوائه على احماض امينية اساسية ونسبة قليلة من الدهون مما جعله مصدرا اساسيا للغذاء في العالم [3 ، 4]. تتمايز العراهين الصالحة للاكل باحتوائها على مركبات فعالة بايولوجيا مثل Sesquierpenes و Glycolipds وغيرها التي لها فاعلية حيوية مضادة للبكتريا، والفطريات، والفايروسات [5] وذكر[6] عند دراستهم الفاعلية المضادة للمايكروبات للمستخلص المائي والكحولي لعدد من العراهين ومنها *A. bisporus* انها تمتلك فاعلية تثبيطية جيدة ضد العديد من الفطريات والبكتريا ومنها *Aspergillus niger* و *Pseudomonas aeruginosa* . الذي توصل [7] اليه ان المستخلص الكحولي لثمار الفطر *A. bisporus* اظهر فاعلية تثبيطية ضد العديد من الفطريات ومنها *Aspergillus flavus* و *Aspergillus fumigatous* و *Penicillium chrysogenum*

و *Sporotricumcarnis* و *Humicolagrisea* و *Thermoascus aurantiacus*.

ويعد الفطر *Pythium aphanidermatum* من فطريات التربة الممرضة ذات المدى العائلي الواسع وهو مسبب رئيس لمرض سقوط البادرات والذبول وتعفن الساق والجذر للعديد من النباتات الاقتصادية ولا سيما الخضراوات [8] .كما انه اشد الانواع التابعة للجنس *Pythium* امراضية في العراق في المراحل الاولى لنمو نباتات الخيار والبنجر السكري والقطن والطماطة [9 ، 10] لذا هدفت الدراسة الى تقييم فاعلية لقاح الفطر *A. bisporus* والذي يعرف بأسم Spawn في مكافحة الفطر *P. aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار ودراسة شدة المرض ونسبة الاصابة بالفطر الممرض واثره في معايير نموبادرات الخيار.

المواد وطرائق العمل:

1- تنمية الفطر *A. bisporus* على الوسط الزرعي PDA مختبريا

تم الحصول على ثمار الفطر الغذائي *A. bisporus* من الاسواق المحلية، اذ جلبت الى المختبر وتم تقطيعها الى قطع صغيرة (0.5 سم) وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% لمدة دقيقتين وغسلت بالماء المعقم وتم التخلص من الماء الزائد وذلك بوضعها على ورق نشاف معقم وزرعت في اطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي Potato dextrose agar (PDA) وبواقع اربع قطع في كل طبق. حضنت الاطباق في درجة حرارة (25 ± 1) م° لمدة 5 أيام [10].

2- تحضير لقاح الفطر الغذائي

اتبعت طريقة [11] لتحضير لقاح الفطر الغذائي وذلك باخذ 1كغم من حبوب الحنطة الجيدة النوعية والخالية من الحبوب المتكسرة واضيف اليها 2 لتر من الماء المقطر وسخنت الى درجة حرارة 100 م° لمدة 45 دقيقة. رشحت الحبوب للتخلص من الماء الزائد واضيف اليها ما نسبته 6% من وزنها كربونات الكالسيوم CaCo3 و2% كبريتات الكالسيوم CaSo4 ومزجت بشكل متجانس. وضعت البذور في قناني زجاجية سعة 500 مل بمقدار 100 غم لكل قنينة واغلقت فوهاتها بسدادة قطنية وعقمت في جهاز الموصدة (121 م° وضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة ساعة) وفي اليوم الثاني رجت المحتويات واعيد تعقيمها مرة ثانية وفي اليوم الثالث لقحت البذور باقراص من مستعمرة الفطر *A. bisporus* بعمر 5 ايام ثم حضنت الدوارق عند درجة حرارة (25 ± 1) م° لمدة 14 يوماً رجت خلالها محتويات الدوارق لتجانس النمو ومنع التصاق الحبوب.

3-عزل المسبب المرضي وتشخيصه

تم عزل المسبب المرضي من نباتات خيار مزروعة في البيوت المحمية لمنطقة ابو غريب تظهر عليها اعراض الاصابة وذلك باخذ عينات من جذور نباتات الخيار ووضعها تحت ماء الحنفية الجاري لمدة ساعة واحدة بعدها قطعت الى اجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 2% ثم غسلت بماء معقم ونقلت الى اطباق زجاجية قطر 9 سم حاوية على كمية من الماء المقطر المعقم (15-20) مل / طبق وبمقدار (3-4) قطع / طبق ، حضنت الاطباق بدرجة حرارة (25± 2) °م وبعد مدة 24-48 ساعة فحصت العينات تحت المجهر الضوئي للكشف عن المسبب المرضي الفطري وذلك من خلال الحوافظ السبورية المتكونة على النسيج المصاب .نقلت قطع النسيج الى وسط PDA (Potato Dextrose Agar) مضافا اليه المضاد الحيوي Ampicillin بمقدار 200 ملغم / لتر [12]

وحضنت عند درجة حرارة (25± 2) °م لمدة 3 ايام لتكشف المسبب المرضي الذي تم تشخيصه اعتمادا على الصفات المظهرية له والتي تشمل الغزل الفطري والتراكيب التي يكونها الفطر ولا سيما الحوافظ السبورية [13] .

4-اختبار كفاءة الفطر *A. bisporus* في حماية بادرات الخيار من الاصابة بمرض سقوط البادرات تحت ظروف البيت الزجاجي

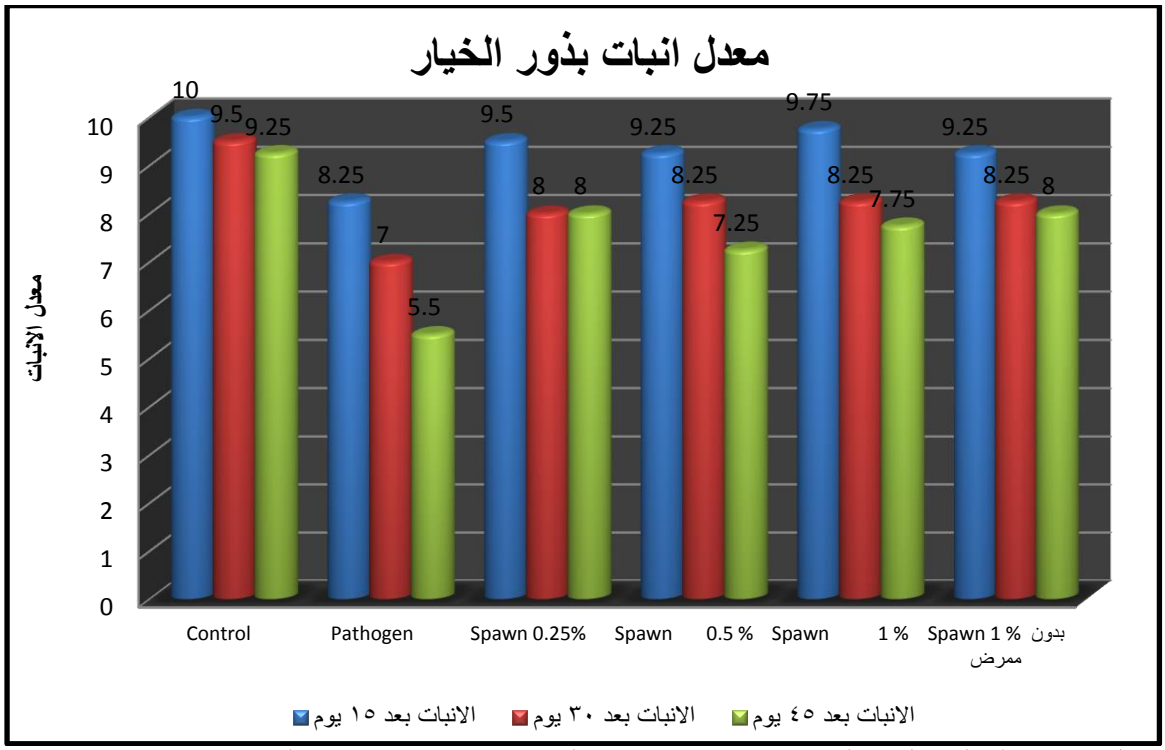
اختبرت القدرة الامراضية لعزلتين من الفطر *P. aphanidermatum* المنماة على بذور الذرة البيضاء بعد ان غسلت جيدا ونقعت بالماء وعقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 2% ووضعت في دوارق زجاجية سعة 250 مل بواقع 50 غم بذور ذرة بيضاء و200 مل ماء معقم ثم عقمت بجهاز التعقيم البخاري بدرجة 121°م وضغط 1.5 كغم /سم^2 لمدة 20 دقيقة بعد ذلك اضيف اللقاح الفطري المنمى على وسط PDA بوساطة ثاقب فليني بقطر 0.5 سم بواقع 3 قطع لكل دورق وتركت في الحاضنة بدرجة 25±2°م لمدة 7 أيام ، بعدها اضيف اللقاح بنسبة 0.1 % الى اصص قطرها 15 سم حاوية على 1 كغم تربة مزيجية بعد تعقيمها مرتين بجهاز التعقيم البخاري عند درجة 121°م وضغط 1.5 كغم /سم^2 لمدة ساعة ، رطبت وغطيت الاصص باكياس البولي اثلين ووضعت بالبيت البلاستيكي وبعد 3 ايام اضيف لقاح الفطر *A. bisporus* المنمى على بذور الحنطة بنسبة 0.25 و0.5 و1% / اصيص وبعد يومين زرعت بذور الخيار صنف بيتا الفا (محلي) بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم وبواقع 10 بذرة /اصيص ،اخذت نتائج نسبة الانبات بعد مرور 15 ، 30 ، 45 يوماً وكذلك حسبت معايير النمو من طول النبات والوزن الطري والجاف لبادرات الخيار وحسبت شدة المرض والدليل المرضي على وفق معادلة [14].

$$\text{\% لشدة الاصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0 \times 0) + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 1 \times 1) + \dots\dots + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 5 \times 5)}{\text{مجموع النباتات} \times 5} \times 100$$

وبالاعتماد على المدرج المتكون من 0 - 5 درجات وهي تمثل الوزن الطري لمعدل المجموع الجذري لنباتات الخيار وكما ياتي: 0 ≤ 0.5 غم ، 1= 0.4 – 0.49 غم ، 2= 0.3 – 0.39 غم ، 3= 0.2 – 0.29 غم ، 4= 0.1 – 0.19 غم ، 5 ≥ 0.09 او موت النبات [15].

النتائج والمناقشة:

نفذت هذه الدراسة لغرض معرفة مدى قدرة الفطر الغذائي *A. bisporus* على تقليل خطر الاصابة بالفطر *P.aphanidermatum* المسبب المرضي لمرض سقوط بادرات الخيار. اظهرت النتائج قدرة الفطر *A. bisporus* على حماية بادرات الخيار من الاصابة بالفطر الممرض (شكل 1). اذ ظهر عدم وجود فروق معنوية بعد 15 يوماً من زراعة بذور الخيار بين معاملة لقاح الفطر *A. bisporus* بالتراكيز (0.25 ، 0.5 ، 1)% والتي بلغت (9.5 ، 9.25 ، 9.25) بادرة خيار على التوالي وبين معاملة المقارنة ، في حين اختلفت جميعها بفروق معنوية عن معاملة الفطر الممرض *P. aphanidermatum* المسبب المرضي لمرض سقوط بادرات الخيار. واستمر تفوق لقاح الفطر *A. bisporus* في حماية بادرات الخيار بعد 30 يوماً من زراعة بذور الخيار، اذ بلغت (8.25 ، 8.25 ، 8.25) بادرة على التوالي وبفروق معنوية عن معاملة الفطر الممرض 7 بادرة. وبعد 45 يوماً من الزراعة استمرت الفروق المعنوية بين معاملات لقاح الفطر *Agarics bisporus* والتي بلغت (8 ، 7.25 ، 7.75) بادرة ومعاملة الفطر الممرض 5.5 بادرة. في حين نلاحظ عدم وجود تاثير سلبي في نسبة انبات الخيار في معاملة لقاح الفطر *A. bisporus* فقط من دون الفطر الممرض.



* كل رقم في الشكل يمثل معدل ثلاث مكررات، وقيمة اقل فرق معنوي 0.05 >P لنسبة الانبات 0.458 و 0.775 و 1.343 على التوالي.

شكل (1) : معدل انبات بذور الخيار بعد 15 و 30 و 45 يوم من الزراعة

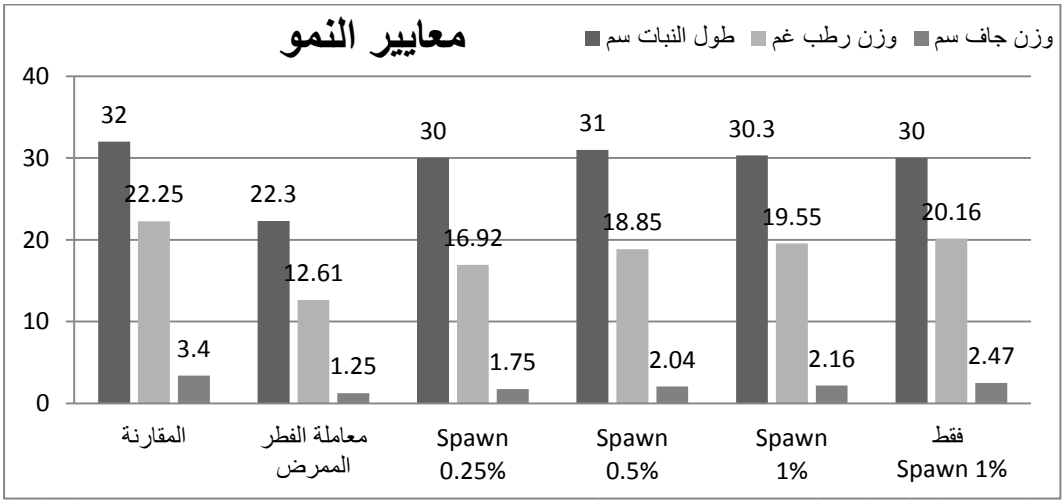
اظهرت نتائج شدة المرض والدليل المرضي وجود فروق معنوية مهمة بين المعاملات (جدول 1). وكانت اعلى شدة للمرض والدليل المرضي في معاملة الفطر الممرض *P.aphanidermatum* والبالغة 4.5 ، 90% والتي اختلفت معنويا عن جميع المعاملات الاخرى. في حين استطاعت معاملات لقاح الفطر *A. bisporus* وبالتراكيز الثلاثة المختبرة من خفض شدة المرض والدليل المرضي بنحو 22 % عن معاملة الفطر الممرض. وقد يعود السبب في قدرة لقاح الفطر الفطر *A. bisporus* على حماية نباتات الخيار من الاصابة بالفطر الممرض *P. aphanidermatum* الى المنافسة على المواد الغذائية والمكان لقدرة الفطر *A. bisporus* على تكوين غزل فطري قوي لكونه عائداً الى الفطريات البازيدية. او من خلال افراز الفطر *A. bisporus* العديد من المواد الكيميائية الى خارج جسم الفطر والتي قد تحتوي على فعالية بايولوجية لكونها مضادات حيوية طبيعية كالبروتينات والببتيدات واحماض عضوية لها فعالية مضادة للفطريات الممرضة والبكتيريا وهذا ما اشارت اليه العديد من المصادر [16 ،17] او يعود السبب الى المواد الكيميائية التي تفرز من جسم الفطر *A. bisporus* الى الوسط الذي يعيش به الفطر الغذائي والتي قد تتداخل مع المواد الكيميائية التي تفرز من قبل جذور نبات العائل لغرض جذب الابواغ السابحة للفطر الممرض مما يؤدي الى حصول اخفاق في الاصابة بالفطر الممرض [18 ، 19].

جدول 1: تاثير لقاح الفطر *A. bisporus* في شدة المرض والدليل المرضي للفطر *P. aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار

المعاملات	شدة المرض	الدليل المرضي%
المقارنة	0.5	10
معاملة الفطر الممرض	4.5	90
Spawn 0.25%	3.5	70
Spawn 0.5%	3.5	70
Spawn 1%	3.5	70
فقط Spawn1% بدون ممرض	0.5	10
اقل فرق معنوي 0.05	0.428	8.54

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.**

وبينت النتائج في شكل (2) ان المعاملات المستعملة في مكافحة الفطر الممرض *P.aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار حققت زيادة معنوية في مؤشرات النمو ممثلة في طول النبات والوزن الرطب والجاف للنباتات قياساً بمعاملة المقارنة بعد 45 يوماً من الزراعة. اذ لم تختلف معنويا كل من معاملات لقاح الفطر *A. bisporus* وبالتراكيز الثلاثه (0.25، 0.5 ، 1)% بالنسبة لطول النبات والبالغة (30 ، 31 ، 30.3)سم على التوالي عن معاملة المقارنة (32سم) في حين اختلفت معنويا عن معاملة الفطر الممرض (22.3 سم). وانعكست هذه النتائج على الوزن الرطب اذ اختلفت معاملات لقاح الفطر والبالغة (16.92، 18.85، 19.55)غم على التوالي معنويا عن معاملة الفطر الممرض (12.61 غم). فضلا عن استمرار الاختلاف المعنوي لمعاملات لقاح الفطر في الوزن الجاف والبالغة (1.75، 2.04، 2.16)غم عن معاملة الفطر الممرض *P. aphanidermatum* والذي بلغ 1.2غم.



* كل رقم في الشكل يمثل معدل ثلاثة مكررات، وقيمة اقل فرق معنوي 0.05 >Pتساوي 3.081 و 1.606 و 0.325 على التوالي.

شكل (2) استعمال لقاح الفطر *A.bisporus* في معايير نمو بادرات الخيار بعد 45 يوماً من الزراعة.

المصادر:

[1] Hadwan, H. A.; Al-Kaissy, M.; Al-tikriti, M. N.; Alani, S. R. and Dhar, B. L. 1993. Evaluation of strains of*Agaricus bisporus* for yield and chemical composition. Mushroom Res. 2: 83-86.

[2] Ayodele, S. M. and Idoko, M. E. 2011. Antimicrobial activity of four wild edible mushrooms In Nigeria. International Journal of science and Nature.2 (1): 55-58.

[3] Moses, R. T. 2006. Biological and chemical control of fungal seedling of cowpea. Master thesis. Plant Protection .University of Pretoria pp:67.

[4]Chang, S. T. and Miles, P. G. 1987. Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press, Boca Raton, pp:345.

[5] Stassen, J. H. M. and Ackerveken, G. V. D. 2011. How do Oomycetes effectors interfere with plant life. Plant Biology.14:407-414.

[6] Domasch, K. H. and Games, W. 1980. Compendium of soil fungi. P.1227-1229. Academic Press. Asubsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, publishers.

[7] John M. Whipps.1987. Effect of media on growth and interactions between a range of soilborne lass house pathogens and antagonistic fungi. The new phytologist 107:127-142.

[8] Imtiaj, A. and Lee, T. 2007. Screening of antibacterial and antifungal activities from Korean wild mushroom. World Journal of Agricultural Sciences.3(3):316-321.

[9]Kupra, J.; Anke, T.; Oberwinkler, F.; Schramn, G. and Steglich, W. 1979. Antibiotics from basidiomycetes. VII.

[10] Sutton, J. C.; Sopher, C. R. Owen-Going, T. N.; Liu, W.; Grodzinski, B.; Hall, J. C. and Benchimol R. L. 2006. Etiology and epidemiology of Pythium root rot on hydroponic crops: current knowledge and perspectives. Summa Phytopathologica. 32:307-321.

[11] Kumar, V. and Yadav, U. 2014. Screening of antifungal activity of *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus*. Biolife journal 2(3):918-923.

[12] Waser, S. P. 2002. Review of Medicinal Mushrooms Advances: Good News from Old Allies. Herbal Gram.American Botanical Council. 56:28-33.

[13] Moglad, E. H. O. and Saadabi, A. M. 2012.Screening of antimicrobial activity of wild mushrooms from khartoum state of Sudan**.** Microbiology Journal. 2: 64-69.

[14] Chatterton, S.; Sutton, J. C. and Boland, G. J. 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. Biological cont.30:360-373.

[15] طه،خالد حسن ،نبيل عزيزقاسم ونضال محمد يونس .1988. المقاومة الكيمياوية لمرض موت بادرات واعفان جذور الطماطة .مجلة زراعة الرافدين .20: 275-287.

[16] Verma, A.; Keshervani, G. P.; Sharma, Y. K. Sawarkar, N. J. and Singh, P. 1987. Mineral content of edible mushrooms. Indian J. Nutr.Dietetics.24:241-245.

[17] ادم ،كمال ابراهيم .2000. المقاومة المتكاملة لمرض تعفن بذور وجذور وموت بادرات الطماطة.اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل.

[18] Mackinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporum sativum*.J. Agric. Research 26:195-217.

[19] Kareem, T. A. and Hassan, M. S. 2014. Evaluation of *Glomus mosseae* as biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* on tomato. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare 4(2): 15 – 19.

Evaluate the Effectiveness of *Agaricus bisporus* (Spawn) on Control Damping – off Caused by *Pythium aphanidermatum* on Cucumber

Tareq Abdulsada Kareem ***Dareen Safwat Ismael***
Bushra Subair Abdulsada Al-Maliky

Department of Plant protection, College of Agriculture, University of Baghdad.

Received 15/10/2015
Accepted 3/1/2016

Abstract:

This study was conducted to test the effectiveness of *Agaricus bisporus* inoculums (spawn) in the ratio of (0.25, 0.5 and 1%) v/v to control *Pythium aphanidermatum* fungus the causal agent of damping- off disease of cucumber plant. results showed the ability of *A. bisporus* fungus to protect the seedlings from incidence by *P. aphanidermatum* . all treatments of edible fungus inoculums were significantly different from pathogen treatment after 15 day of planting and there was no significant difference found from control treatment (without pathogen) . the successful of *A. bisporus* was continued to protect the seedlings after 30 and 45 day after planting. The numbers of seedlings were (8, 7.25 & 7.25) respectively compared to 5.5 seedlings in control treatment (with pathogen) on the 45$^{th.}$ Disease severity was reached (4.5) and the disease index was (90%) in pathogen treatment that significantly different from all other treatments. At the same time the treatments of the tested ratio (0.25, 0.5, 1) % were able to reduce the ratio of disease severity and disease index by 22% compared to control treatment (with pathogen). The results showed that all treatments of edible fungus inoculums that used to control *P. aphanidermatum* were achieved significant increase in growth index represented by plants height which reached to (30, 31, 30.3) cm respectively, compared to control treatment (with pathogen) (22.3)cm. The results reflected on plants wet weight (16.92, 18.85, 16.92)g were significant increase from control treatment (with pathogen) (12.61)g. As well as the significant increase in plants dry weight of edible fungus inoculums were reached (1.75, 2.04, 2.16) g compared to control treatment (with pathogen) (1.2)g.

Key words: Dapping off, Spawn, Disease severity, *Pythium aphanidermatum*.