مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (1) 2017
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور الباقلاء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* (Kuhn) وانتخاب الأنواع المثبطة للمرض كعوامل مكافحة احيائية

2. مؤشرات المقاومة المستحثة بفعل فطر المقاومة الاحيائي *Trichoderma harzianum* وعلاقتها بالمرض وانتاجية النبات

عبد الله عبد الكريم حسن ، مآرب احمد عواد

قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

Email: Abdullah_has67@yahoo.com

الملخص

اوضحت قابلية التضاد لـ 15 نوع من الفطريات المصاحبة لمرض تعفن الجذور ضد الفطر الممرض *R.solani* ان الفطر *T. harzianum* كان اسرع نموا من الفطر الممرض اذ غطى نموه كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو اذ بلغت درجة التضاد 1.33، اجريت تجربة حقلية في كلية الزراعة /جامعة تكريت للموسم 2012/2011 لاختبار استحثاث المقاومة الجهازية من قبل فطر المقاومة *T. harzianum* ضد مرض تعفن الجذور المتسبب عن الفطر *R.solani* في ثلاث اصناف من الباقلاء، اعطى صنف شابيلا المصاب بالفطر *R.solani* والمكافح بالفطر *T. harzianum* اعلى نسبة مئوية لآنبات البذور بلغت 98.67. مقارنة ب 67.67% في النباتات المصابة غير المكافحة للصنف نفسه وسجل الصنف المحلي المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيروكسيديز Peroxidase بلغت 10.90 (وحدة/ملغ بروتين), في حين سجل الصنف المحلي غير المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase بلغت 0.289(وحدة/ملغ بروتين). بلغت اعلى فعالية نوعية لآنزيم الكايتينيز Chitenase في الصنف برشلونة المصاب المكافح 2.089(وحدة/ملغ بروتين), في حين بلغت اعلى فعالية نوعية لآنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase في الصنف شابيلا المصاب المكافح 2.163(وحدة/ملغ بروتين). اظهر الصنف برشلونة المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم Phenyl alanine ammonialyase بلغت 0.074(وحدة/ملغ بروتين), وبلغ اعلى محتوى من الفينولات الكلية في الصنف المحلي المصاب والمكافح بفطر المقاومة الحيوية 19.22ملغ /غم نسيج تلاه غير المصاب المكافح بمحتوى فينولات بلغ 13.53ملغ /غم نسيج ، خفض الفطر *T.harzianum* نسبة الخلايا الميتة من 75.3 و 70.0 و 58.3% الملقحة بالفطر الممرض لوحده الى 20.07و 30.0و 44.4% للاصناف محلي وشابيلا وبرشلونة المعاملة بالفطر الممرض والفطر *T. harzianum* على التوالي كما وخفض الفطر *T.harzianum* شدة الاصابة من 44.67 و 50.67 و 44.67% الملقحة بالفطر الممرض لوحده الى 14.3و 23.67 و 21.93% للاصناف محلي وشابيلا وبرشلونة المعاملة بالفطر الممرض والفطر *T. harzianum* على التوالي في حين ارتفعت انتاجية النباتات المصابة بالفطر الممرض لوحده من 53.7 و 34.8 و 74.3 غم حبوب طازجة/نبات الى 104 و 68.0 و 158.8 غم/نبات عند مكافحة تلك النباتات المصابة بفطر المقاومة الاحيائي *T. harzianum* للاصناف محلي وشابيلا وبرشلونة على التوالي.

الكلمات المفتاحية: مرض تعفن جذور، الباقلاء ، مؤشرات المقاومة المستحثة ، المكافحة الاحيائية ، *Rhizoctonia solani* ، *Trichoderma harzianum*

المقدمة

الباقلاء (*ViciafabaeL.*) faba bean احد المحاصيل الحولية الشتوية الواسعة الانتشار العائدة للعائلة البقولية Fabaceaeالتي تحتل المرتبة الثانية بعد العائلة النجيلية من حيث الأهميةوالتي تحتوي بذورها على نسبة بروتين عالية وتقدر بحدود (25–40%) (1) وهذا يزيد من أهمية المحصول لقيمته الغذائية العالية وماتحتويه بذوره من كربوهيدرات التي تصل نسبتها في اغلب الأصناف (56 %) فضلا عن قدرته على تحسين صفات التربة من خلال تثبيته للنايتروجين الجوي في التربة عن طريق العقد الجذرية بالتعايش مع بكتريا (*Rhizobium*spp) إذ يقدر ما تثبته نباتات العائلة البقولية من النتروجين الجوي بـ 40-60 مليون طن متري سنويا لذا فهو يدخل في التعاقب المحصولي بهدف تحسين خواص التربة. نظرا لأهمية هذا المحصول فأنه يتعرض الى العديد من الأفات الزراعية التي تسبب خسائر اقتصادية بالحاصل كالإصابة بالآفات الحشرية والإمراض الفطرية والفيروسية والديدان الثعبانية والنباتات الزهرية المتطفلة, ويعد مرض تعفن الجذور الناجم عن الفطر *Rhizoctonia solani* من أهم تلك الأمراض والشائعة في العالم ومن ضمنها العراق مسبباً خسائر اقتصادية بهذا المحصول اذ يهاجم الفطر النباتات في جميع مراحل نموها مسببا تعفن البذور وموت البادرات قبل وبعد البزوغ, وتعفن الجذور وقواعد السيقان, وتستخدم لمقاومة هذا المرض عدد من الطرق الفيزياوية والكيمياوية والطرق الإحيائية والأكثر شيوعا هي استخدام المبيدات والمبخرات الكيمياوية ونظرا لخطورة هذه المواد وكلفتها العالية وسميتها على مستوى الإنسان والحيوان فضلا عن تأثيراتها

في البيئة فقد لجأت الأبحاث الى طرق مقاومة أخرى أكثر أمانا ولعل أبرزها المقاومة الإحيائية اذ استخدمت الكائنات الحية كعوامل مقاومة إحيائية Biological control (BCAs) agents للعديد من فطريات التربة الممرضة ومن هذه العوامل الفطر *Trichoderma* (spp) وأنواع عديدة منه استعملت كعوامل مكافحة حيوية قوية ضد فطريات التربة الممرضة والتي نجحت كبديل للمبيدات الكيميائية (2) و فطريات المايكورايزا الحويصلية الشجيرية Vescular arbuscular mycorriza مثل النوع *Glomus intaradices*(3) و فضلا عن فطريات اخرى مثل *Paecilomyces lilacinus* و الفطر *Verticillium bigutatum* والفطر *Pleurotus*(4) إذ تمتلك هذه الفطريات عدد من الآليات التي تجعلها عوامل مقاومة إحيائية فعالة مثل سرعة نموها ومنافستها على المواد الغذائية والمكان وإفرازها للعديد من المضادات الحيوية والأنزيمات فضلا عن تحفيزها للمقاومة الجهازية في النباتات وتحطيم خلايا المضيف بشكل رئيسي من خلال التطفل

نظرا لأهمية هذا المرض وانتشار المسبب المرضي في القطر بصوره عامة وفيمحافظة صلاح الدين بصورة خاصة ولعدم وجود دراسة مسبقة على مستوىالمحافظة تختص بدراسة الفطريات المصاحبة للمرض وكذلك انتخاب الأنواعالمثبطة للمرض كعوامل مكافحة إحيائية فقد أجريت هذه الدراسة التي تهدف الى:

1- عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور الباقلاء من بعض مناطق محافظة صلاح الدين.

2- غربلة الفطريات المعزولة لأنتخاب الأكثر مقاومة للمرض.

3- دراسة آلية المكافحة الإحيائية من خلال دراسة حث المقاومة الجهازية للنبات والتضاد وتكوين المركبات الفينولية.

4- تأثير فطر المقاومة الإحيائي المنتخب لمقاومة المرض من جهة وفي مؤشرات النمو والانتاج لبعض أصناف الباقلاء من جهة اخرى.

المواد وطرائق العمل

نفذ هذا البحث في كلية الزراعة / قسم وقاية النبات في جامعة تكريت للفترة من(2012-2013).

عزل وتشخيص الفطريات

1-العزل من الجذور

جرى عزل الفطر الممرض *R.solani* والفطريات المصاحبة له في اليوم التالي من جمع العينات (مناطق مختلفة من قضاء تكريت وسامراء وبيجي وبلد) من نباتات الباقلاء التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان اذ اخذت 10عينات من كل منطقة وتم فصل منطقة الساق القريبة من سطح التربة ومنطقة الجذور عن باقي أجزاء النبات عند ارتفاع 5 سم فوق منطقة التاج وغسلت الجذوربالماء الجاري لمدة 30 دقيقة ثم تركت لفترة قصيرة لتجف ، قطعت هذه الأجزاء إلى قطع صغيرة بطول 1 سم وعقمت بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم (NaOCL) بتركيز 1% لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات ثم جففت على ورق ترشيح نوع Whatman-N0.4 نقلت 5 قطع إلى إطباق بتري تحتوي على 15-20 مل من الوسط الزرعي PDA استخدم 5 اطباق لكل عينة و وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2 م مدة 3-5 ايام ، نقيت هذه المستعمرات كل على حدة عن طريق اخذ جزء من حافة المستعمرة ونقت إلى إطباق بتري تحتوي على وسط PDA المعقم بالطريقة السابقة و حضنت لمدة ثلاثة أيام على درجة حرارة 25 ±2 م ثم شخصت الفطريات على مستوى النوع اعتمادا على شكل المستعمرة وتركيب الحوامل والأبواغ والتراكيب الأخرى التي يكونها الفطر وفق الأسس التصنيفية المعتمدة (5،6).

تحضير لقاح الفطرين *T. harzianum* و *R. solani*

نقعت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لمدة 6 ساعات بعدها غسلت جيدا بالماء ومن ثم وضع 50غم منها في دوارق زجاجية سعة 250 مل وأضيف لها 10مل من الماء المقطرلترطيبها وعقمت بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121 م وضغط 1.5 كغم /سم2لمدة ساعة واحدة ونمي الفطرين *R. solani* و *T. harzianum*عن طريق نقل خمسة أقراص قطر 0.5 سم لكل فطر ووضعت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2 م لمدة (10 ايام) مع مراعاة رج الدوارق كل 2 - 3 يوم لضمان توزيع اللقاح الفطري وعدم تكتله .

المكافحة الحيوية لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان نباتات الباقلاء المتسبب عن الفطر *R.solani*

نفذت تجربة حقلية في حقول كلية الزراعة – جامعة تكريت,اذ تم تصميم التجربة بقطاعات عشوائية كاملة RCBD بثلاث قطاعات كل قطاع يحوي 12 معاملة ,حرثت التربة التي ابعادها 50×12 م^2 وتم تسويتها وتنظيفها وعقمت بالفورمالين بتركيز 5% من المحلول التجاري قسم الحقل الى 3 قطاعات المسافة بين قطاع واخر 1م كل قطاع يحتوي 12معاملة بمسافات متساوية بعدها قسمت إلى 36 وحدة تجريبية بأبعاد 2×2.5 م^2 لكل وحدة تجريبية مع ترك مسافة 60 سم^2 بين الوحدات التجريبية وذلك لعمل كتف ترابي ارتفاعه 25- 30 سم قسمت كل وحدة تجريبية الى اربعة خطوط كل خط يحوي 5 نباتات والمسافة مابين خط واخر 60 سم^2 ومابين نبات واخر 40 سم^2 ومعاملة واخرى 1 م^2 وتم ري الارض ريه كاملة قبل الزراعة وسمدت الأرض حسب التوصية السمادية اذ اضيف سماد (سوبر فوسفات بمعدل 428غم لكل معاملة واليوريا بمعدل 11.73غم وكبريتات البوتاسيوم بمعدل 209غم) لكل معاملة وعلى دفعتين, زرعت 3 أصناف من بذور الباقلاء (الصنف المحلي وصنف شابيلا وصنف برشلونة) بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 10% بمعدل3 بذور لكل جورة وأضيف لقاح الفطرين (*R.solani* و *T. harzianum*)المحمل على بذور الدخن الى المعاملات المقرر تلويثها بمعدل 1غم لقاح لكل شتلة وبعدالانتهاء من توزيع المعاملات سقيت الوحدات التجريبية باستخدام منظومة التنقيط, واجريت عمليات الري وعزق الأدغال حسب حاجة الحقل, تضمنت التجربة المعاملات التالية:

1- معاملة الفطر الممرض + (ثلاثة اصناف)/ 2- معاملة الفطر الحيوي+(ثلاثة اصناف)/ 3- معاملة الفطرالممرض+الفطر الحيوي+(ثلاثة اصناف)/ 4- معاملة المقارنة+ وسط حبوب الدخن غير الملقحة+ (ثلاثة اصناف).

مؤشرات المقاومة المستحثة في نبات الباقلاء بفعل الفطر *T. harzianum*

قدرت مؤشرات المقاومة المقاومة الجهازية بعد 6 اسابيع من عمر النبات والتي شملت تقدير البروتينات المتعلقة بالممرض Pathogen Related Proteins (PRP) وهي البيروكسيديز Peroxidase والبيتا-كلوكانيز B-glucanase والكايتينيز Chitinase والبولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase و-Phenyl alanine ammonialyase فضلا عن الفينولات الكلية.

تحضير المستخلص الأنزيمي

اخذ 1غم من الجذر لكل معاملة وغسل جيدا وقطع الى قطع صغيرة وتم سحق الجذر في هاون خزفي موضوع في حمام ثلجي وأضيف له 10 مل من محلول الفوسفيت المنظم pH6 ورشح بورق الترشيح وبعدها وضع في أنابيب ونبذت في جهاز الطرد المركزي المبرد درجة 4 م بواقع 10.000 دورة/ دقيقة لمدة 20 دقيقة لفصل الراشح عن الراسب وبعدها اخذ الراشح النباتي الذي يمثل المستخلص الأنزيمي (4).

تقدير إنزيم البيروكسيديز Peroxidase

قدر انزيم البيروكسيديز حسب طريقة (7) من خلال قياس الأمتصاصية على طول موجي 470 نانوميتر لخليط التفاعل المكون من 2.5مل محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و 0.1 مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وعرفت الوحدة الأنزيمية بالتغير في الأمتصاصية بمقدار 0.01 لكل دقيقة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين)حسب المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية النوعية (وحدة/ملغ بروتين)} = \frac{\text{الفعالية الأنزيمية (وحدة/ مل)}}{\text{تركيز البروتين (ملغ/ مل)}}$$

تقدير إنزيم البيتا-كلوكانيز β-glucanase1,3

يتكون مزيج التفاعل لتقدير انزيم البيتا كلوكانيز من إضافة 1مل من محلول β-glucan1,3 (المحضر من اذابة 5غم من β-glucan في 100مل بفر pH6) إلى 1مل من المستخلص الأنزيمي ثم حضن المزيج على درجة حرارة 35 م° في حمام مائي لمدة 40 دقيقة ثم يؤخذ 1 مل من المزيج بعد التحضين ويضاف اليه1مل من محلول DNS(Di nitro salselic acid) المحضر من اضافة 1غم DNS في50 مل ماء مقطرثم يضاف 20 مل هيدروكسيد الصوديوم NaOH تركيز 8% و 30 غممن ملح روشل (محلول صوديوم بوتاسيوم تارتريت)و30 مل ماء مقطر ويعقبه التسخين بالحمام المائي على درجة حرارة 100 م لمدة 5 دقائق بعدها اجري تبريد سريع للأنابيب واضيف 2 مل ماء مقطر وقيست الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي540 نانوميتر(8). لأستخراج فعالية الأنزيم وحدة /مل تم اعتماد المنحنى القياسي لتراكيز مختلفة من سكر الكلوكوز وتم التعبيرعن الفعالية الأنزيمية بالوحدات اللازمة لتحرير 1مايكرومول من الكولكوز لكل مل بالدقيقة الواحدة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين) حسب المعادلة في الفقرة السابقة.

تقدير انزيم الكايتينيز Chitinase

لتقدير هذا الأنزيم اتبعت طريقة(9) اضيف 1مل من محلول الكايتين المحضر عن طريق(اذابة 100 غم من مسحوق الكايتين في 200 سم^3 من حامض الفوسفوريك 95% وتكون الأذابة ببطئ وبشكل تدريجي خلال فترة ساعتين وعلى درجة حرارة 25 م° بعدها يضاف 2لتر ماء مقطر ويترك المحلول بدرجة حرارة الغرفة لليوم التالي يفصل المحلول بالترشيح ثم يؤخذ الراسب (الكايتين) ويغسل عدة مرات في الماء المقطر حتى يصل رقم التفاعل الى5.5) الى1 مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وحضن المزيج في حمام مائي على درجة 37 م لمدة ساعتين ونبذت بالطرد المركزي بواقع 2000 دورة بالدقيقة لمدة دقيقتين فقط للتخلص من الشوائب ثم اخذ1 مل من المحلول بعد الطرد المركزي واضيف اليه 1مل من DNS ووضع المزيج في حمام مائي 100 م لمدة 5 دقائق بعدها بردت الأنابيب وقيست الأمتصاصية على طول موجي540 نانوميتر ولأستخراج فعالية الأنزيم وحدة/ مل تم اعتماد المنحنى القياسي لسكر N-acetyl glucoseamine وتم التعبيرعن الفعالية الأنزيمية بالوحدات اللازمة لتحرير 1 مايكرومول من سكر N-acetyl glucoseamine لكل مل بالدقيقة الواحدة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم حسب المعادلة في الأنزيم الأول.

تقدير انزيم Poly phenol oxidase

قدر انزيم بولي فينول اوكسيديز حسب طريقة (10) من خلال قياس الأمتصاصية على الطول الموجي 470 نانوميتر لخليط التفاعل المتكون من 2.5 مل من محلول الكاتيكول chatechol المحضر من (اضافة 0.025 مل من إل Chatechol الى 100مل من محلول الفوسفيت المنظم ذو الرقم الهيدروجيني 6) و 0.1 مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وعرفت الوحدة الأنزيمية بالتغير الحاصل في الأمتصاصية بمقدار 0.01 لكل دقيقة ثم حسبت الفعالية النوعية للأنزيم حسب المعادلة في الأنزيم الأول.

تقدير انزيم Phenyl alanine- ammonialyase

يتكون مزيج التفاعل من اضافة 2.5 مل من المحلول المنظم pH8.8 Tris-Base الى 0.5 مل من المستخلص الأنزيمي واضيف اليها 3مل من 1m M Phenyl alanin حضن المزيج لمدة ساعة كاملة على درجة حرارة 35-30 وبعد التحضين اضيف 1مل من حامض HCL المركز و 1مل من التولوين حرك المزيج لمدة 30 ثانية ونبذ بالطرد المركزي بسرعة 1000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق اخذت طبقة التولوين وقيست الأمتصاصية على طول موجي 290 نانوميتر مع تحضير الكفئ Blank للتولوين فقط (11). لأستخراج فعالية الأنزيم (وحدة/ مل) تم اعتماد المنحنى القياسي لحامض السيانميك

Cinamic acid ، يعبر عن الفعالية الأنزيمية بالوحدات اللازمة لتحرير 1 مايكرومول من حامض السينامك لكل مل بالدقيقة الواحدة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين).

تقدير البروتين

استخدمت طريقة بايوريت لتقدير البروتين في المستخلصات الأنزيمية لمعاملات التجربة ، اذ اضيف1مل من المستخلص الأنزيمي في انابيب زجاجية ثم اضيف اليها 4 مل من محلول بايوريت مزجت جيدا وحضنت الأنابيب لمدة 20 دقيقة على درجة 37 م وقيست الأمتصاصية على طول موجي 540 نانوميتر. ولأستخراج تركيز البروتين تم اعتماد المنحنى القياسي (المكون من تراكيز مختلفة من البومين المصل البقري) لتقدير البروتين (12).

تقدير الفينولات الكلية

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل (13) قطع1غم من النسيج النباتي (جذور) الى1سم و وضعت الجذور في 10مل كحول اثيلي تركيز 80% في حمام مائي مغلي لمدة 10 دقائق بعدها برد وسحق جيدا بالهاون الخزفي ورشح عبر قطعتي من الشاش ثم اضيف 15 مل كحول 80% وسحق مرة اخرى واكمل الحجم النهائي الى 25 مل. وضع 1مل من المستخلص الكحولي في انبوبة اختبار واضيف1مل من حامض HCL العيارية 0.05 مع اضافة 1مل من محلول ارنو (المتكون من اذابة 25غم نترات الصوديوم$NaNo_2$ في كمية من الماء المقطر واضيف 10غم من مولبيدات الصوديوم Sodium molybodium ثم اكمل الحجم إلى 100مل بالماء المقطر) و 10 مل ماء مقطر و 2 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (4%) وتم قياس الأمتصاصية على طول موجي 515 نانوميتر ولأستخراج تركيز الفينولات تم اعتماد المنحنى القياسي لتراكيز مختلفة من الكاتيكول.

تقدير شدة اصابة النباتات

قدرت النسبة المئويةلشدة الأصابة لكل المعاملات حسب معادلة Mckinney (14) فيما تم تقدير درجة الأصابة حسب مظهر الأصابة اعتمادا على الدليل التالي: 0/ النبات سليم والمجموع الجذري كبير والجذور بيضاء / 1 تلون بسيط على الجذور واصفرار لعدد محدود من الأوراق/ 2 تلون الجذور بالكامل مع اصفرار شامل للأوراق / 3 يمتد التلون من الجذور الى قواعد السيقان / 4 موت النبات

شدة الاصابة(%) = 100 × عدد النباتات في الدرجة 0×0 + عددالنباتات في الدرجة 5×5 / مجموع النباتات المفحوصة×4...

حاصل النبات

بعد نهاية التجربة قدر معدل وزن الحبوب الطري (غم) / نبات

النتائج والمناقشة

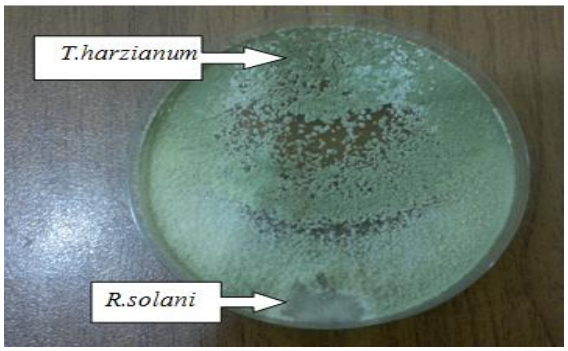
قابلية التضاد للفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور الباقلاء ضد الفطر الممرض *R.solani*

عزل وشخص 15 عزلة من انواع مختلفة من الفطريات المصاحبة لمرض تعفن الجذور في الباقلاء ، فضلا عن 4 عزلات للفطر المسبب للمرض *R. solani* اختيرت اشد العزلات امراضية وهي العزلة R.s.4 بعد تطبيق فرضيات كوخ عليها لغرض انتخاب اكفأ فطرمن الفطريات المعزولة ضد هذا المرض ، بينت نتائج جدول (1) قابلية التضاد للفطريات المصاحبة لمرض تعفن الجذور ضد الفطر الممرض *R.solani* وبينت النتائج ان المقاوم الحيوي *T. harzianum* كان اسرع نموا من الفطر الممرض اذ غطى نموه كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو و بلغت درجة التضاد 1.33كما في الصورة (1)يليه الفطر *T. viride* اذ غطى نموه ثلثي مساحة وغطى الفطر الممرض الثلث الباقي وبلغت درجة التضاد 1.66 حسب السلم الذي وضعه (Bell15). ثم تلاها الفطر *Aspergillus flavus* والفطر *A.oryzae* حيث اذ بلغت قيمة التضاد 2.0 و2.66 ,على التوالي ,اما بقية الفطريات فكانت غير متضادة لنمو الفطر *R.solani* حسب هذا الأختبار. اشارت العديد من البحوث الى قدرة المقاوم الحيوي *T. harzianum* على افراز العديد من الأنزيمات المحللة كأنزيمات Chitinase او ß-1,3 gluconase وProteaseLipase فضلا عن تجمع والتصاق ابواغ عامل المكافحة الأحيائية على الغزل اللفطري للممرض محللة اياه (16)او انتاج المضادات الحيوية مثل الأيمودين والترايكودرمين والكلاتوكسين وافراز مواد ايضية غازية مثل الأسيتال هايد وكذلك بين Montealegre (2) ان المقاوم الحيوي *T. harzianum* كان له تأثير مثبط لنمو الفطر *R.solani*. وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات التي اشارت الى كفاءة راشح مزرعة الفطر *Trichoderma spp.* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة للنبات وربما يعزى ذلك الى افرازه للعديد من المواد المثبطة لنمو الفطريات كأنتاج المضادات الحيوية Pachybasin وAlamethacin وDiketopiperazines وTrichorzianinse فضلا عن انتاج مركبات متطايرة كالأسترات والكحولات التي لها فعل كابح للعديد من الفطريات الممرضة للنبات (17).

جدول (1) قابلية التضاد للفطريات المصاحبة لمرض تعفن الجذورضد الفطر الممرض *R.solani*

الفطريات	درجة التضاد(ضد الفطر الممرض *R.solani*)
A. flavus	2.0 c
A. niger	3.33 b
T. harzianum	1.33 d
A. oryzae	2.66 c
Rhizopus	4.00 a
Aspergillus sp.	4.33 a
A.fumigates	4.33 a
F. oxysporium	3.66 b
Penicillum sp.	4.33 a
Heleminthosporium	4.33 a
A. alternate	4.33 a
P. italicum	4.33 a
Stemophyllium sp.	3.33 b
Mucor sp.	3.33 b
T. viride	1.66 d

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%



الصورة (1) تضاد الفطر *T.harzianum* مع الفطر الممرض *R.solani*

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في نسبة انبات البذور (%) لثلاثة اصناف من الباقلاء

يوضح الجدول(2) وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها اذ بلغت النسبة المئوية لآنبات البذورفي النباتات المكافحة90.83 مقارنة بالنباتات غير المكافحة اذ بلغت 78.33.وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف المحلي وصنف شابيلا غير المصاب اعلى نسبة مئوية لآنبات البذو بلغت 89.83 . مقارنة بالمصاب اذ بلغت 79.5 و 77.8 % للصنف المحلي والصنف شابيلا,على التوالي.. إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول (2) وجود فروقات معنوية عالية اذ اعطى صنف شابيلا المكافح اعلى نسبة مئوية لآنبات البذوراذ بلغت 96.3 ثم تلاه الصنف المحلي المكافح بنسبة مئوية بلغت 89.6 مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت النسبة المئوية لآنبات البذور 76.6 و79.6 للصنف شابيلا والصنف المحلي , على التوالي, وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل بين الأصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات المكافحة بالفطر الحيوي*T. harzianum* اعلى نسبة مئوية لآنبات البذور بلغت 91.44 قياسا بالنباتات غير المكافحة اذ بلغت68.8%.اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية عالية اذ اعطى صنف شابيلا المصاب المكافح اعلى نسبة مئوية للآنبات بلغت 98.67. مقارنة بالمصاب غير المكافح اذ بلغت النسبة المئوية للأنبات 67.67 و 71.0 للصنفين شابيلا والمحلي, على التوالي,واعطى الصنف شابيلا في النباتات المكافحة بفطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* اعلى نسبة مئوية للآنبات بلغت 94.0 تلاها الصنف المحلي المكافح بنسبة مئوية بلغت 91.33 .مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت النسبة المئوية للآنبات 85.67 و 88.33 للصنفين شابيلا والمحلي, على التوالي.

من خلال النتائج تبين ان الفطر *R.solani* كان الأكثر تأثير في النسبة المئوية لأنبات البذوروهذا يمكن ان يعزى الى قدرة هذا الفطر الممرض وكفائته وتخصصه في مهاجمة البذور وهي في طور قبل البزوغ ويستطيع افراز المواد الأيضية المؤثرة على الأنبات وكذلك الأنزيمات اللازمة لتحليل البذور وتعفنها. في حين اظهر الفطر *T. harzianum* ارتفاعا في النسبة المئوية لأنبات البذور مقارنة بالسيطرة. ربما يعزى السبب الى قدرة الفطر *T. harzianum* في توفير بعض الحماية للبذور في اثناء عملية الأنبات وخلال مهاجمتها من قبل الفطر الممرض *R.solani* او قد يعود السبب الى افراز بعض المواد التي تعمل على تحليل الغلاف الخارجي للحبوب مما يسهل عملية الأنبات مثل انزيم Cellulase, او افراز مواد ذات تأثير تحفيزي على الأنبات والنمو مثل Indole Acetic Acid, ويمكن تفسير حماية الفطر *T. harzianum* للبذور من الفطر الممرض *R.solani* بأفراز الفطر *T. harzianum* موادا خارجية تعمل على تثبيط انزيمات الفطر الممرض فضلا عن افرازه لبعض المواد المشجعة لنمو النبات او استحثاث المقاومة في النبات (18).

جدول(2) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في نسبة انبات البذور (%) لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الإصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	88.00	71.00	79.5
	غير مصاب	91.33	88.33	89.83
صنف شابيلا	مصاب	98.67	67.67	83.1
	غير مصاب	94.00	85.67	89.83
صنف برشلونة	مصاب	87.0	68.0	77.8
	غير مصاب	85.33	89.3	87.3
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	89.6	79.6	84.67
	صنف شابيلا	96.3	76.6	86.5
	صنف برشلونة	86.5	78.6	82.58
التداخل بين الآصابة والمكافحة	تأثيرالإصابة			
	مصاب	91.44	68.8	80.17
	غير مصاب	90.2	87.7	89.00
تأثير المكافحة		90.83	78.33	

LSD	الصنف	الاصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والاصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الاصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	n.s	n.s	3.11	6.86	6.86	3.93	7.95

مؤشرات المقاومة المستحثة (البروتينات المتعلقة بالممرض)

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase(وحدة/ملغ بروتين) للمرحلة الثانية لثلاثة اصناف من الباقلاء

تبين نتائج الجدول(3) وجود فروقات معنوية بين الأصناف الثلاثة لنبات الباقلاء اذ اعطى الصنف المحلي اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت 8.430(وحدة/ملغ بروتين),وتلاه الصنف شابيلا بفعالية نوعية بلغت 7.615(وحدة/ملغ بروتين) ثم الصنف برشلونة بفعالية نوعية بلغت 7.601 (وحدة/ملغ بروتين) . كذلك تبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة بالفطر *R.solani* اعلى فعالية نوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase بلغت 9.288 (وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بعدم الأصابة التي بلغت 6.476 (وحدة/ملغ بروتين). ويوضح الجدول وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها اذ بلغت الفعالية الآنزيمية للنباتات المكافحة 9.126(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بـ 6.638 (وحدة/ملغ بروتين) لغير المكافحة.وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف المحلي المصاب اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت 10.06 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاه الصنف برشلونة المصاب بفعالية نوعية بلغت 9.37 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المصاب اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 6.800 و 5.82 (وحدة/ملغ بروتين) للصنفين المحلي وبرشلونة ,على التوالي.. إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيروكسيديز Peroxidase اذ بلغت 9.403 تلاه الصنف المحلي المكافح بفعالية نوعية بلغت 9.05 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافح اذ بلغت الفعالية النوعية للآنزيم 5.798 و 7.8 (وحدة/ملغ بروتين) للصنفين برشلونة والمحلي ,على التوالي.. ويبين الجدول وجود فروقات معنوية بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات المصابة والمكافحة اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيروكسيديز Peroxidase بلغت 10.57 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بالمصابة بالفطر *R.solani* غير المكافحة اذ بلغت فعالية الآنزيم 8.006 (وحدة/ملغ بروتين). اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف المحلي المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيروكسيديز Peroxidase بلغت 10.90 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاها الصنف برشلونة المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 10.403 (وحدة/ملغ بروتين). مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت فعالية الأنزيم 6.400 و 3.243 و 6.167(وحدة/ملغ بروتين) للأصناف الثلاثة, على التوالي.. ان سبب ارتفاع الفعالية الأنزيمية في النباتات المصابة بالفطر *R.solani* وغير المكافحة بفطر المقاومة الأحيائي قد يعزى الى ان المسبب المرضي يعمل على استحثاث المقاومة للنبات, وتعمل استجابة النبات نتيجة لتلك الأصابة متمثلة في ظهور العديد من عوامل المقاومة ومنها البروتينات المتعلقة بالممرض Pathogen Related Proteins(PRP) وهو رد فعل طبيعي لمعظم النباتات التي تصاب بالامراض النباتية ,يلاحظ من خلال النتائج ان فعالية انزيم البيروكسيديز Peroxidase بلغت اقصاها في النباتات المصابة والمكافحة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* وفي هذه الحالة يمكن تعزى اسبابها الى حث عوامل المقاومة للنبات بفعل المسبب المرضي من جهة وكذلك من قبل المقاومة الحيوية بالفطر *T.harzianum* من جهة اخرى وتتميز المعاملة بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum* بحث الأنزيم من قبل الآنبات بصورة مبكرة لآداء فعله التثبيطي ضد الفطر الممرض *R.solani* في حين يكون تحفيز الآنزيم من قبل المسبب المرضي متأخرا اتى بعد حدوث

الأصابة وانتشار المرض فقد تكون فائدة النبات معدومة من حث الآنزيم بفعل الآصابة. و يعمل البيروكسيديز Peroxidase مع بيروكسيد الهيدروجين في تكسير انزيمات المسبب المرضي ومنها انزيم Pectinase ومن ثم تثبيط عملية تحطيم الجدار الخلوي للنبات واستحثاث الفايتوالكسينات فضلا عن الدفاعات التركيبية لتقوية الجدران مثل بناء اللكنين كما يتفاعل الآنزيم مع بروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار الخلوي (19).

جدول(3) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase وحدة / مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الإصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	10.90	9.217	10.06
	غير مصاب	7.200	6.400	6.800
صنف شابيلا	مصاب	10.40	6.447	8.42
	غير مصاب	7.440	6.167	6.803
صنف برشلونة	مصاب	10.403	8.353	9.37
	غير مصاب	8.403	3.243	5.82
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	9.05	7.80	8.430
	صنف شابيلا	8.92	6.307	7.615
	صنف برشلونة	9.403	5.798	7.601
تأثيرالإصابة				
التداخل بين الإصابة والمكافحة	مصاب	10.57	8.006	9.288
	غير مصاب	7.681	5.27	6.476
تأثير المكافحة		9.126	6.638	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	0.187	0.153	0.153	0.265	0.265	0.216	0.375

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase وحدة /مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

تشير نتائج الجدول(4) الى وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة بالفطر *R.solani* اعلى فعالية نوعية لأنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase بلغت 0.202 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المصابة اذ بلغت 0.186 (وحدة/ملغ بروتين) , ويوضح الجدول وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها اذ بلغت الفعالية الآنزيمية للنباتات المكافحة 0.226 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.162 (وحدة/ملغ بروتين), وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت0.223 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاه الصنف شابيلا المصاب اذ بلغت الفعالية النوعية للآنزيم 0.195 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بـ 0.164 و 0.193 (وحدة/ملغ بروتين) لغير المصاب للصنفين برشلونة وشابيلا,على التوالي, إما عن تأثير التداخل بين الصنفوالمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف المحلي المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase اذ بلغت 0.244 (وحدة/ملغ بروتين). تلاه الصنف برشلونة المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.227 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافح اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.145 و 0.160(وحدة/ملغ بروتين) للصنفين المحلي وبرشلونة. ويبين الجدول وجود فروقات معنوية بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات غير المصابة والمكافحة اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase بلغت 0.230 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بالمصابة غير المكافحة اذ بلغت 0.182 (وحدة/ملغ بروتين). اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف المحلي غير المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase بلغت 0.289 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاها الصنف برشلونة المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.259 (وحدة/ملغ بروتين). ثم الصنف شابيلا المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.208 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.113 و 0.132 و 0.179 (وحدة/ملغ بروتين) للأصناف الثلاثة ,على التوالي.

إن الذي يؤكد استحثاث المقاومة في النباتات المصابة والمكافحة بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum*هو زيادة الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة والتي تمت معاملتها بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum*إذ كانت الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة المعاملة بالفطر الآحيائي اعلى مما هو عليه في النباتات السليمة غير المعاملة بالفطر الآحيائي .

ان β-glucan هو احد البوليمرات الموجودة في جدر الخلايا الفطرية ومن ضمنها الفطر *R.solani*ويؤدي انزيم B-1,3glucanase دور مهم في التحليل المائي لهذه المركبات عند الأصابة الى وحدات ابسط

(سكريات بسيطة) كلوكوز وسكريات قصيرة القطع مما يضعف الجدار الخلوي للفطر الممرض كنتيجة مباشرة لأصابة النبات بالمسببات المرضية كما يتبعها ايضا وجود بروتينات المقاومة SAR-Related proteins(systemic acquired resistance) وهي المعروفة بالبروتينات الخاصة بالمقاومة الجهازية المكتسبة ويكون وجودها او نشاطها مرتبط بشدة المقاومة الناشئة عن العدوى الأولية او الحث على المقاومة (20). وان انتاج انزيم Chitinase وانزيم β-1,3 glucanase تعتبر عوامل مهمة في المكافحة الحيوية لفطريات التربة لقابليتهم العالية على تحليل وازالة(Chitin و β-1,3 glucan) الموجودة في جدر خلايا المسببات المرضية (21).

جدول(4) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase وحدة /مل للمرحلة الثانية لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	0.200	0.1770	0.188
	غير مصاب	0.289	0.113	0.201
صنف شابيلا	مصاب	0.208	0.183	0.195
	غير مصاب	0.206	0.179	0.193
صنف برشلونة	مصاب	0.259	0.187	0.223
	غير مصاب	0.195	0.132	0.164
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	0.244	0.145	0.1948
	صنف شابيلا	0.207	0.181	0.1945
	صنف برشلونة	0.227	0.160	0.1936
التداخل بين الإصابة والمكافحة	تأثيرالإصابة			
	مصاب	0.222	0.182	0.202
	غير مصاب	0.230	0.141	0.186
تأثير المكافحة		0.226	0.162	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	n.s	0.004	0.004	0.008	0.008	0.006	0.010

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز Chitenase وحدة /مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

تبين نتائج الجدول(5) جود فروقات معنوية بين الأصناف الثلاثة لنبات الباقلاء اذ اعطى الصنف برشلونة اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت 1.398(وحدة/ملغ بروتين) ,وتلاه الصنف شابيلا بفعالية نوعية بلغت 1.203(وحدة/ملغ بروتين) ,ثم الصنف المحلي بفعالية نوعية بلغت 1.089(وحدة/ملغ بروتين) . كذلك تبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة بالفطر *R.solani* اعلى فعالية نوعية لأنزيم الكايتينيز Chitenase بلغت 1.250 (وحدة/ملغ بروتين) ,مقارنة بغير المصابة اذ بلغت فعالية الآنزيم 1.210(وحدة/ملغ بروتين) . ويشير الجدول الى وجود فروقات معنوية بين المكافحة من عدمها اذ كانت اعلى فعالية نوعية في النباتات المكافحة بالفطر *T.harzianum* بلغت 1.595 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت 0.864 (وحدة/ملغ بروتين). وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت1.534(وحدة/ملغ بروتين), وتلاه الصنف شابيلا المصاب بفعالية نوعية بلغت 1.335(وحدة/ملغ بروتين),مقارنة بغير المصاب اذ بلغت فعالية الأنزيم 1.263 و1.071(وحدة/ملغ بروتين) للصنفين برشلونة وشابيلا,على التوالي. إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم الكايتينيز Chitenase اذ بلغت 1.912(وحدة/ملغ بروتين),تلاه الصنفين شابيلا والمحلي المكافحين بفطر المقاومة الحيوي *T.h* بفعالية نوعية بلغت 1.437(وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافح اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.884 و0.969 و0.740 (وحدة/ملغ بروتين) للأصناف الثلاث ,على التوالي,. ويبين الجدول وجود فروقات معنوية بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات غيرالمصابة والمكافحة اعلى فعالية نوعية لآنزيم الكايتينيز Chitenase بلغت 1.718 (وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بالمصابة غير المكافحة اذ بلغت 1.028 (وحدة/ملغ بروتين),. اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول الى وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم الكايتينيز Chitenase بلغت 2.089(وحدة/ملغ بروتين), وتلاها الصنف المحلي غيرالمصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 1.940 (وحدة/ملغ بروتين) ثم الصنف برشلونة غير المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 1.738(وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.788 و0.650 و0.666 (وحدة/ملغ بروتين) للآصناف الثلاثة ,على التوالي.

تبين النتائج ارتفاع ارتفاع الفعالية الأنزيمية في النباتات المصابة بالفطر *R.solani* وغير المكافحة بفطر المقاومة الأحيائي قد يعزى

الى ان المسبب المرضي يعمل على استحثاث المقاومة للنبات ,وتعمل استجابة النبات نتيجة لتلك الأصابة متمثلة في ظهور العديد من عوامل المقاومة ومنها البروتينات المتعلقة بالممرض Pathogen Related Proteins (PRP) او كرد فعل طبيعي للنبات نتيجة الأصابة بالآمراض النباتية.

يلاحظ من خلال النتائج ان فعالية انزيم الكايتينيز Chitenase بلغت اقصاها في النباتات المصابة والمكافحة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* وفي هذه الحالة يمكن تعزى اسبابها الى حث عوامل المقاومة للنبات بفعل المسبب المرضي من جهة وكذلك من قبل المقاومة الحيوية بالفطر *T.harzianum*من جهة اخرى (22). وتتفق هذه النتائج مع ماتوصلت اليه (3) اذ بينت ان اصابة نباتات الطماطة بالفطر *F.oxysporum* ادت الى زيادة فعالية انزيم *β-1,3* glucanase وانزيم Chitinase تدريجيا بأزدياد زمن الأصابة .

وإن الذي يؤكد استحثاث المقاومة في النباتات المصابة والمكافحة بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum* هو زيادة الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة والتي تمت معاملتها بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum*إذ كانت الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة المعاملة بالفطر الآحيائي اعلى مما هو عليه في النباتات السليمة غير المعاملة بالفطرالآحيائي.

ان الكايتين هو بوليمر مؤلف من وحدات مكررة من سكر N-acetyl glucoseamiin وهو من المكونات الرئيسة في جدر الفطريات ومنها الفطر الممرض *R.solani* كونه يعطي صلابة للتركيب البنائي للجدران ويحتوي على نسبة عالية من النتروجين الذي يحتاجه الفطر *T. harzianum* في النمو وبناء البروتوبلازم.لذا يهاجم الفطريات الحاوية على الكايتين ويلتف حول خيوطها الفطرية بشكل ملف ويبدأ بأفراز انزيم الكايتينيز الذي يحللخلايا الجدران لغرض امتصاص مكوناتها الداخلية ومن ثم التغذي عليها كونها مصدر كاربوني ايضا ويحصل الفطر *T. harzianum* منها على الكاربون والنتروجين في وقت واحد (23) وبوجود انزيم الكايتينيز Chitinase الذي يحلل الكايتين مائيا مما يؤدي الى ضعف الجدار الخلوي في الفطر الممرض مختزلا من امراضيته وتكمن اهمية الفطر *T.harzianum* بدورين مهمين في اضعاف الفطر الممرض اما من خلال حث النبات لزيادة انتاج هذا الأنزيم كونه احد عوامل المقاومة المستحثة وحسب ماتم اثباته في نتائج هذه الدراسة او من خلال افراز الفطر *T.harzianum* نفسه للكايتينيز بشكل مباشر والذي يؤدي نفس الدور في اضعاف الفطر الممرض.

جدول(5) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز Chitenase وحدة /مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	0.934	0.831	0.882
	غير مصاب	1.940	0.650	1.295
صنف شابيلا	مصاب	1.398	1.271	1.335
	غير مصاب	1.476	0.666	1.071
صنف برشلونة	مصاب	2.087	0.981	1.534
	غير مصاب	1.738	0.788	1.263
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	1.437	0.740	1.089
	صنف شابيلا	1.437	0.969	1.203
	صنف برشلونة	1.912	0.884	1.398
تأثيرالإصابة				
التداخل بين الإصابة والمكافحة	مصاب	1.473	1.028	1.250
	غير مصاب	1.718	0.701	1.210
تأثير المكافحة		1.595	0.864	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	0.04	0.032	0.032	0.055	0.055	0.045	0.078

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase وحدة /مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

توضح نتائج الجدول(6) وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة بالفطر *R.solani* اعلى فعالية نوعية لأنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase بلغت 0.866 (وحدة/ملغ بروتين)،مقارنة بغير المصابة اذ بلغت 0.775 (وحدة/ملغ بروتين) ويشير الجدول الى وجود فروقات معنوية بين المكافحة من عدمها اذ كانت اعلى فعالية نوعية في النباتات المكافحة بالفطر *T.harzianum* بلغت 1.201(وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت 0.440 (وحدة/ملغ بروتين). وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف شابيلا المصاب اعلى فعالية نوعية للأنزيم بلغت 1.301 (وحدة/ملغ بروتين) مقارنة بالمصاب اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم

0.563 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاه الصنف المحلي غير المصاب بفعالية نوعية بلغت 1.25(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بالمصاب اذ بلغت فعالية الأنزيم النوعية 0.653 (وحدة/ملغ بروتين). إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف شابيلا المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase بلغت 1.44 (وحدة/ملغ بروتين), تلاه الصنف المحلي المكافح بفعالية نوعية بلغت 1.376(وحدة/ملغ بروتين),مقارنة بغير المكافح اذ بلغت فعالية الآنزيم0.417 و 0.525 (وحدة/ملغ بروتين) للصنفين شابيلا والمحلي,على التوالي,. ويبين الجدول وجود فروقات معنوية بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات المصابة والمكافحة اعلى فعالية نوعية لآنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase بلغت 1.233 (وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بالمصابة غير المكافحة اذ بلغت 0.501 (وحدة/ملغ بروتين). اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف شابيلا المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لآنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase بلغت 2.163 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاها الصنف المحلي غيرالمصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 2.053(وحدة/ملغ بروتين). ثم الصنف برشلونة المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.836(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.393 و 0.446 و 0.300 (وحدة/ملغ بروتين) للأصناف الثلاثة,على التوالي.

يلاحظ من خلال النتائج ان فعالية البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase بلغت اقصاها في النباتات المصابة والمكافحة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* وفي هذه الحالة يمكن تعزى اسبابها الى حث عوامل المقاومة للنبات بفعل المسبب المرضي من جهة وكذلك من قبل المقاومة الحيوية بالفطر *T.harzianum* من جهة اخرى (18). ويعد انزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase احد انزيمات الأكسدة والأختزال الذي يشترك في تأكسد الـ polyphenol وبناء اللكنين في خلايا النبات خلال غزو المسببات المرضية ويشترك في استجابة النبات للأصابة من خلال تفاعلات الدفاع ,وفرط الحساسية, عن طريق استحثاث المقاومة ضد المسببات المرضية, وان زيادة الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة والتي تمت معاملتها بفطر المقاومة الآحيائي *T.harzianum* دلالة على استحثاث المقاومة إذ كانت الفعالية الآنزيمية للنباتات السليمة المعاملة بالفطر الآحيائي اعلى مما هو عليه في النباتات السليمة غير المعاملة بالفطر الآحيائي وهذا يؤكد استحثاث المقاومة في النباتات المصابة والمكافحة بفطر المقاومة الآحيائي*T.harzianum* .وهذه النتائج تتفق مع (24) اذ لاحظ في مستخلص الجذور المعاملة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* لنبات الحمص زيادة فعالية انزيم Poly phenol oxidaseوانتاج المواد المثبطة Chymotrypsin و Trypsin.

جدول(6) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum*والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase وحدة /مل للمرحلة الثانية لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والاصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	0.701	0.604	0.653
	غير مصاب	2.053	0.446	1.25
صنف شابيلا	مصاب	2.163	0.441	1.301
	غير مصاب	0.733	0.393	0.563
صنف برشلونة	مصاب	0.836	0.456	0.646
	غير مصاب	0.724	0.300	0.512
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	1.376	0.525	0.950
	صنف شابيلا	1.44	0.417	0.932
	صنف برشلونة	0.780	0.378	0.579
تأثيرالآصابة				
التداخل بين الآصابة والمكافحة	مصاب	1.233	0.501	0.866
	غير مصاب	1.17	0.380	0.775
تأثير المكافحة		1.201	0.440	

LSD	الصنف	الاصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والاصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الاصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	0.022	0.034	0.034	0.043	0.043	0.041	0.063

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum*والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase وحدة / مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

تبين نتائج الجدول (7)عدم وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها ,ويشير الجدول الى وجود فروقات معنوية بين المكافحة من عدمها اذ كانت اعلى فعالية نوعية في النباتات المكافحة بالفطر *T.harzianum*بلغت 0.047(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت 0.029 (وحدة/ملغ بروتين),.وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب اعلى فعالية نوعية للآنزيم بلغت0.059

(وحدة/ملغ بروتين),وتلاه الصنف المحلي المصاب بفعالية نوعية بلغت 0.038 (وحدة/ملغ بروتين) ,مقارنة بغير المصاب اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم0.040 و 0.034 (وحدة/ملغ بروتين), للصنفين,على التوالي,. إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة المكافح اعلى فعالية نوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase بلغت 0.064 (وحدة/ملغ بروتين), تلاه الصنف المحلي المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.044(وحدة/ملغ بروتين),مقارنة بغير المكافح اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.035 و 0.028 (وحدة/ملغ بروتين), للصنفين برشلونة والمحلي, على التوالي,. ويبين الجدول وجود فروقات معنوية بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات المصابة والمكافحة اعلى فعالية نوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase بلغت 0.051(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بالنباتات المصابة غير المكافحة اذ بلغت الفعالية النوعية للأنزيم 0.033 (وحدة/ملغ بروتين). اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب المكافح اعلى فعالية نوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase بلغت 0.074 (وحدة/ملغ بروتين), وتلاها غيرالمصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.055(وحدة/ملغ بروتين), ثم الصنف المحلي المصاب المكافح بفعالية نوعية بلغت 0.047(وحدة/ملغ بروتين), مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت فعالية الأنزيم النوعية 0026 و 0.027 (وحدة/ملغ بروتين) .يلاحظ من خلال النتائج ان فعالية Phenyl alanine ammonialyase بلغت اقصاها في النباتات المصابة والمكافحة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* وفي هذه الحالة يمكن تعزى اسبابها الى حث عوامل المقاومة للنبات بفعل المسبب المرضي من جهة وكذلك من قبل المقاومة الحيوية بالفطر *T.harzianum*من جهة اخرى ،تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه(25)اذ بين ان المعاملة بالفطر arbuscular mychorriza (AM)fungi كذلك ادى الى زيادة انزيم Phenyl alanine ammonialyase في عوائل نباتية مختلفة.ان سبب ارتفاع الفعالية الأنزيمية في النباتات المصابة بالفطر *R.solani* وغير المكافحة بفطر المقاومة الأحيائي كرد فعل للنبات لان النبات المصاب بالممرضات يحفز مقاومة النبات وهذه النتائج تتفق مع ما ذكرته دراسات سابقة اذ ان انزيم PAL يحفز التفاعل الذي يحول الفينايل النين الى امونيا و tras-cinnamic acid ويشترك انزيمPAL في اول خطوات مسار phenyl propanoids لهذا يشترك في البناء الحيوي لمركبات الفينولات المتعددة مثل الفلافونويدات وال phenyl propanoids والكنين في النباتات. ويحث انتاج الأنزيم نتيجة الأصابات المرضية للنبات فضلا عن بعض الهورمونات (3). ولاحظ (24) في مستخلص الجذور المعاملة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* لنبات الحمص زيادة فعالية انزيم Phenyl alanine ammonia lyase وانتاج المواد المثبطة Chymotrypsin و Trypsin وفضلا عن ذلك وجد بأن فعاليتها مرتبطة طرديا مع المقاومة المستحثة في العائل ضد المسببات المرضية خلال تعرضه لها ودورها في تخليق اللكنين والسوبرين والميلانين بأكسدة الفينولات وتحويلها الى مواد اكثر سمية للمسببات المرضي.

جدول(7) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفعالية النوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase وحدة /مل لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	0.047	0.029	0.038
	غير مصاب	0.042	0.027	0.034
صنف شابيلا	مصاب	0.032	0.026	0.029
	غير مصاب	0.036	0.025	0.030
صنف برشلونة	مصاب	0.074	0.044	0.059
	غير مصاب	0.055	0.026	0.040
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	0.044	0.028	0.036
	صنف شابيلا	0.034	0.026	0.030
	صنف برشلونة	0.064	0.035	0.050
تأثير الإصابة				
التداخل بين الإصابة والمكافحة	مصاب	0.051	0.033	0.042
	غير مصاب	0.044	0.026	0.035
تأثير المكافحة		0.047	0.029	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	0.015	n.s	0.012	0.021	0.021	0.018	0.030

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

تـأثير المكافحـة الحيويـة بأسـتخدام الفطـر *T.harzianum* والفطـر الممرض *R.s* في الفينولات الكلية (ملـغ/غم نسيج) للمرحلـة الثانيـة لثلاثة اصناف من الباقلاء

تبين نتائج الجدول(8) وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة اعلى محتوى من الفينولات الكلية بلغ 11.14ملغ/غم نسيج مقارنة بغير المصابة اذ بلغت 7.43 ملغ/غم نسيج,واوضح الجدول وجود فروقات معنوية بين المكافحة من عدمها اذ كانت اعلى قيمة للفينولات الكلية في النباتات المكافحة بلغت 11.27ملغ /غم نسيج, مقارنة بغير المكافحة اذ بلغت 7.30 ملغ/غم نسيج ,وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة إذ أعطى الصنف المحلي المصاب اعلى محتوى من الفينولات بلغ 15.42ملغ /غم نسيج , وتلاه الصنف شابيلا المصاب اذ بلغ محتوى الفينولات 11.36 ملغ/غم نسيج ,مقارنة بغير المصاب اذ بلغ محتوى الفينولات الكلي 10.30 و 7.12 ملغ/غم نسيج ,إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية إذ أعطى الصنف المحلي المكافح أعلى محتوى من الفينولات بلغ 16.37ملغ/غم نسيج وتلاه الصنف شابيلا المكافح اذ بلغ محتوى الفينولات فيه 10.93 ملغ /غم نسيج, مقارنة بغير المكافح اذ بلغ محتوى الفينولات الكلي 9.34و 7.56 ملغ/غم نسيج للصنفين ,على التوالي,. ويشير الجدول الى وجود فروقات معنوية للتداخل بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت النباتات المصابة والمكافحة اعلى قيمة للفينولات الكلية بلغت 13.08ملغ/غم نسيج , مقارنة بالمصابة غير المكافحة اذ بلغت 9.20 ملغ/غم نسيج .اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف المحلي المصاب والمكافح بفطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* اعلى محتوى من الفينولات الكلية بلغ 19.22ملغ /غم نسيج تلاه غير المصاب المكافح بمحتوى فينولات بلغ 13.53ملغ /غم نسيج ثم الصنف شابيلا المصاب المكافح اذ بلغ محتوى الفينولات 12.89ملغ/غم نسيج , مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت الفينولات الكلية 7.07 و 5.28 ملغ/غم نسيج للصنفين ,على التوالي,.ان سبب ارتفاع الفينولات الكلية في النباتات المصابة وغير المكافحة بفطر المقاومة الأحيائي *T.harzianum* قد يعزى الى ان المسبب المرضي *R.solani* يعمل على تحفيز بعض الجينات التي كانت سابتة وبالتالي تنتج كمية من الفينولات اكثر او هو رد فعل للنبات نتيجة كاستجابةأوليةلغزو المسببات المرضيةومن خلال النتائج تبين ان الفينولات الكلية كانت اقصاها في النباتات المصابة والمكافحة بفطر المقاومة الحيوية *T.harzianum* وهذه الحالة يمكن ان تعزى اسبابها الى حث النبات على تكوين هذه المركبات بفعل المسبب المرضي *R.solani* من جهة وكذلك من قبل المقاوم الحيوي *T.harzianum* من جهة اخرى وتتفق هذه النتائج مع ماتوصلت اليه (3) اذ بينت ان زيادة تراكم المركبات الفينولية في نبات الطماطة المصاب بالفطر *F.oxysporum* ربما يعكس او يظهر دفاعات عديدة واشارات فعالة نتيجة الأستحثاث بالمعاملة بفطريات المايكورايزا.

جدول(8) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.s* في الفينولات الكلية (ملغ/غم نسيج) للمرحلة الثانية لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	19.22	11.61	15.42
	غير مصاب	13.53	7.07	10.30
صنف شابيلا	مصاب	12.89	9.83	11.36
	غير مصاب	8.97	5.28	7.12
صنف برشلونة	مصاب	7.12	6.17	6.65
	غير مصاب	5.89	3.84	4.86
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	16.37	9.34	12.86
	صنف شابيلا	10.93	7.56	9.24
	صنف برشلونة	6.51	5.00	5.76
التداخل بين الإصابة والمكافحة	تأثيرالإصابة			
	مصاب	13.08	9.20	11.14
	غير مصاب	9.46	5.40	7.43
تأثير المكافحة		11.27	7.30	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	3.94	3.22	3.22	5.58	5.58	4.56	7.9

تـأثير المكافحـة الحيويـة بأسـتخدام الفطـر *T. harzianum* والفطـر الممرض *R.s* في النسبة المئوية للخلايا الميتة لثلاثة اصناف من الباقلاء : يلاحظ من نتائج الجدول(9) عدم جود فروقات معنوية بين الأصناف الثلاثة لنبات الباقلاء. وتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذ اعطت النباتات المصابة بالفطر *R.solani* اعلى نسبة مئوية للخلايا الميتة بلغت 49.68, مقارنة بغير المصابة اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا الميتة 3.34.ويوضح الجدول وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها اذ اعطت النباتات غير

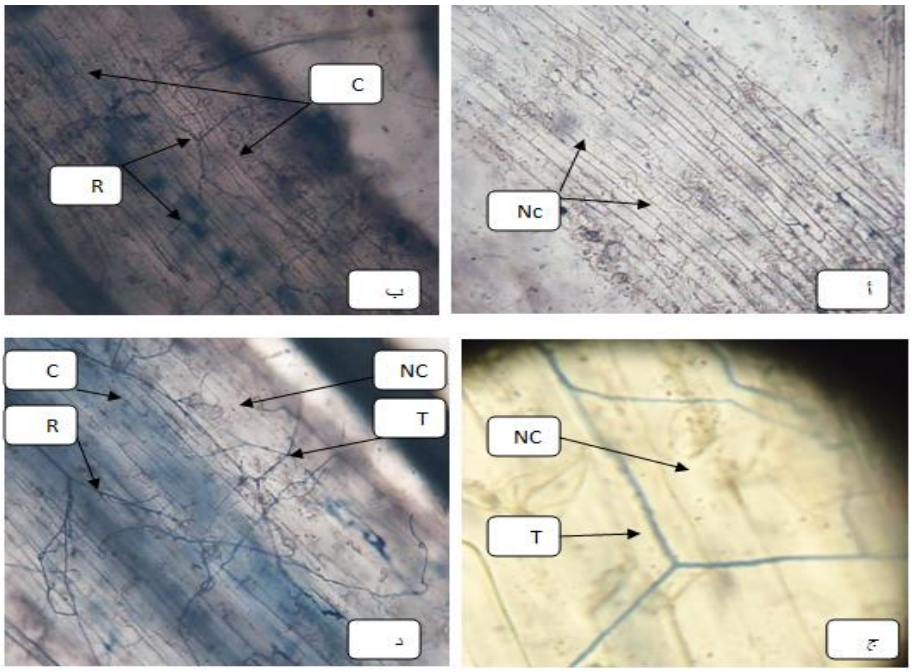
المكافحة بفطر المقاومة الحيوي *T. harzianum* اعلى نسبةمئوية للخلايا الميتة بلغت 36.47, مقارنة بـ 16.56 للنباتات المكافحة. وبينت النتائج وجود فروقات معنوية عالية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف برشلونة المصاب اعلى نسبةمئوية للخلايا الميتة بلغت 51.3,وتلاه الصنف شابيلا المصاب اذ بلغت النسبة المئوية الخلايا الميتة 50.0, مقارنة بغير المصاب اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا الميتة 2.97 و 3.05 للصنفين برشلونة وشابيلا,على التوالي, إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول وجود فروقات معنوية فيما بينها اذ اعطى الصنف المحلي غير المكافح اعلى نسبة مئوية للخلايا الميتة بلغت 41.68. وتلاه الصنف شابيلا غير المكافح بنسبة 37.13, مقارنة بالمكافح اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا الميتة 10.03و 15.9 للصنفين ,على التوالي,اما بالنسبة للتداخل بين الآصابة والمكافحة فبينت النتائج وجود فروقات معنوية اذ اعطت النباتات المصابة غير المكافحة اعلى نسبة مئوية للخلايا الميتة بلغت 67.8, مقارنة بـ 31.47 للمصاب المكافح,اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية عالية اذ اعطى الصنف المحلي المصاب غير المكافح اعلى نسبة مئوية للخلايا الميتة بلغت 75.3.وتلاه الصنف شابيلا المصاب غيرالمكافح اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا الميتة 70.0, مقارنة بمعاملة السيطرة اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا الميتة 8.03 و 4.27 للصنفين ,على التوالي, يلاحظ من الصور (2) مقاطع جذور نبات الباقلاء المعاملة وغير المعاملة بفطري المقاومة الاحيائي *T.harzianum* والممرض *R.solani*. اذ تبين الصورة (أ) معاملة السيطرة والتي لم يشاهد فيها هايفات الفطر كما ان معظم خلاياه سليمة ،اما الصورة (ب) فيظهر معاملة الفطر الممرض مبينا هايفاته منتشرة في خلايا الجذر واصطباغ الخلايا وهو دليل موتها، كما تبين الصورة (ج) معاملة فطر المقاومة الاحيائي *T.harzianum* مبينا انتشار هايفاته في المقطع مع عدم اصطباغ الخلايا وهو دليل عدم تاثر الخلايا بهذا الفطر في حين تبين الصورة (د) معاملتي الفطرين معا وانتشار هايفات كلا الفطرين مع وجود نوعين من الخلايا المصطبغة وغير المصطبغة وهو دليل اختزال تاثير الفطر الممرض من قبل فطر المقاومة الاحيائي. ويلاحظ من الصور (3) مقاطع جذور نبات الباقلاء المعاملة بفطري المقاومة الاحيائي *T.harzianum* والممرض *R.solani* التفاف خيوط *T.harzianum* حول خيط *R.solani* وهي احدى اليات الفطر *T.harzianum* التي تعرف بالتطفل الفطري.

ان زيادة النسبة المئوية للخلايا الميتة يعتبر مؤشر على امراضية المسبب المرضي اذ يؤثر المسبب المرضي بأشكال متعددة ضد النبات ومن هذه الأشكال زيادة موت الخلايا وكلما زادت نسبة موت الخلايا مؤشر على ضراوة المسبب المرضي وبموجب نتائج هذه الدراسة الفطر *T. harzianum* خفض من نسبة الخلايا وهذا دليل على كفائة الفطر في تقليل شدة الأصابة واختزال في تأثيرات المسبب المرضي. ان النسبة المئوية للخلايا الميتة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقط ارتفعت نتيجة لآستمرارالفطر الممرض بمهاجمة النبات وما يسببه من اضرار للنبات.في حين اختزلت اعداد الخلايا الميتة نتيجة لنمو الفطر الأحيائي *T.harzianum*وانتشاره وزيادة حث مقاومة النبات.

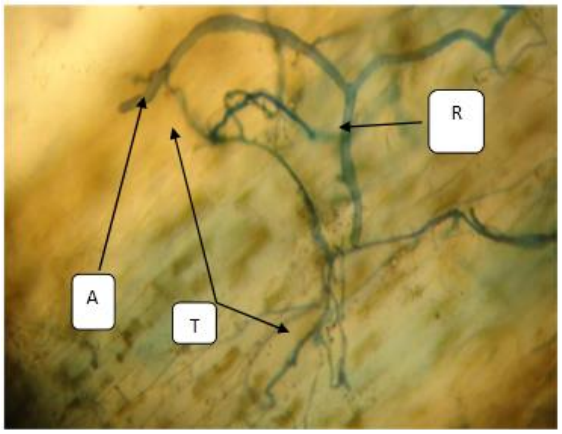
جدول(9) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في النسبة المئوية للخلايا الميتة للمرحلة الثانية من عمر النبات لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	20.07	75.3	47.7
	غير مصاب	0.0	4.03	2.02
صنف شابيلا	مصاب	30.0	70.0	50.0
	غير مصاب	1.8	4.27	3.05
صنف برشلونة	مصاب	44.3	58.3	51.3
	غير مصاب	3.10	2.8	2.97
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	10.03	39.6	24.86
	صنف شابيلا	15.9	37.13	26.53
	صنف برشلونة	23.72	30.5	27.15
التداخل بين الإصابة والمكافحة	تأثيرالإصابة			
	مصاب	31.47	67.8	49.68
	غير مصاب	1.64	3.7	2.67
تأثير المكافحة		16.56	35.8	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة والمكافحة	التداخل الثلاثي
5%	n.s	2.6	2.6	4.4	4.4	3.6	6.2



الصور (2) مقاطع جذور نبات الباقلاء المعاملة وغير المعاملة بفطري المقاومة الاحيائي *T.harzianum* والممرض *R.solani*.بقوة 10x
أ. معاملة السيطرة (بدون وجود الفطريات) – ب. معاملة الفطر *R.solani* (وجود هايفات الفطر مع تلون الخلايا) – ج. معاملة الفطر *T.harzianum* (وجود الهايفات مع عدم تلون الجذور) – د. معاملة الفطرين المقاومة الاحيائي *T.harzianum* والممرض *R.solani*C=خلايا مصطبغة ، Nc= خلايا غير مصطبغة ، (T= هايفات الفطر *T.harzianum*، R= هايفات الفطر *R.solani*)



الصور (3) مقاطع جذور نبات الباقلاء المعاملة بفطري المقاومة الاحيائي *T.harzianum* والممرض *R.solani*بقوة40x
حول *T.harzianum* =A – *T.harzianum*=T – *R.solani*= R التفاف خيوط خيط *R.solani* وهي احدى اليات الفطر التي تعرف بالتطفل الفطري

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في شدة الأصابة (%) لثلاثة اصناف من الباقلاء

تبين نتائج الجدول(10) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum*والفطر الممرض *R.s* في النسبة المئوية لشدة الآصابة لثلاثة اصناف من الباقلاء عدم جود فروقات معنوية بين الأصناف الثلاثة لنبات الباقلاء كما بينت نتائج الجدول وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذا اعطت النباتات المصابة اعلى شدة آصابة بلغت 33.32% .ويشير الجدول الى وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها اذا اعطت النباتات الغير مكافحة اعلى شدة اصابة بلغت 23.33% وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف شابيلا المصاب اعلى شدة اصابة بلغت 37.17% وتلاها الصنف برشلونة اذ بلغت شدة الآصابة 33.3%.إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتوضح نتائج الجدول (10) الى وجود فروقات معنوية بين التداخل الثنائي بين الآصابة والمكافحة اذ اعطت المعاملات المصابة غير مكافحة اعلى شدة اصابة بلغت 46.47% .وفيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية عالية اذ اعطى الصنف شابيلا المصاب غيرمكافح اعلى شدة اصابة بلغت50.67% وتلاها الصنف المحلي وصنف برشلونة بشدة اصابة بلغت 44.67% مقارنة بعدم تسجيل اي اصابة في معاملة فطر *T. harzianum* فضلا عن معاملة السيطرة. وهذه النتائج تتفق مع ماوجده Larkin (26) وكذلك مع عدد من الباحثين اذ ذكر (27،28) ان انواع *Trichoderma* تعد من اكثر الآعداء الحيوية الواعدة في مقاومة الفطريات الممرضة وتمتلك العديد من الآليات تتضمن التطفل المباشر والتنافس على المواد الغذائية وزيادة جاهزية العناصر الغذائية وإنتاج انزيمات Chitinase و βglucanase-1,4 و β–glucanase1,3 والمضادات الحيوية فضلاً عن تثبيط انزيمات الفطريات الممرضة(22).

تتفق النتائج الحالية مع ما توصل اليه(29)الذي بين استخدام المقاوم الحيوي *T.harzianum* في معاملة بذور الحمص ادى الى مقاومة مرض الذبول الفيوزارمي وخفض معنوي في نسبة المرض وشدته. وتمتلك الآعداء الحيوية القدرة على تحليل هايفات المسبب المرضي بأنتاج إنزيمات محللة مثل الكايتينيز Chitinase و Protase و

β– glucanase1,3 حيث تعمل على تحليل الجدران الخلوية وتثبيط نمو الغزل الفطري وإنبات ابواغ الفطريات الممرضة كما تمتلك القدرة على انتاج انزيمات Protases التي تعمل على تحليل الآغشية والجدران الخلوية للفطريات الممرضة وتعمل على تثبيط نشاط انزيمات التحلل المائي وهي Exo-gulacturonse و Endo-polygulacturonase التي ينتجها الفطر *Botrytis cinerea* المسبب للعفن الرمادي مما ينتج عنه خفض في شدة الآصابة بالمرض.

جدول(10) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في شدة الأصابة لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	0.14	0.44	0.29
	غير مصاب	0.0	0.0	0.0
صنف شابيلا	مصاب	0.23	0.50	0.37
	غير مصاب	0.0	0.0	0.0
صنف برشلونة	مصاب	0.21	0.44	0.33
	غير مصاب	0.0	0.0	0.0
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	0.07	0.22	0.14
	صنف شابيلا	0.11	0.25	0.18
	صنف برشلونة	0.10	0.22	0.16
تأثيرالإصابة				
التداخل بين الإصابة والمكافحة	مصاب	0.19	0.46	0.33
	غير مصاب	0.0	0.0	0.0
تأثير المكافحة		0.09	0.23	

تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في وزن الحبوب الطري (غم/ نبات) لثلاثة اصناف من الباقلاء

يلاحظ من نتائج الجدول(11) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في وزن الحبوب الطري (غم/ نبات) لثلاثة اصناف من الباقلاء جود فروقات معنوية بين الأصناف الثلاثة لنبات الباقلاء اذا اعطى الصنف برشلونة اعلى متوسط لوزن الحبوب الطري بلغ 149.8 غم وتلاه الصنف المحلي اذ بلغ وزن الحبوب الطري 107 غم واعطى الصنف شابيلا اقل وزن للحبوب الطري بلغ 60.5 غم وتشير نتائج الجدول الى وجود فروقات معنوية بين الإصابة من عدمها اذا اعطت النباتات غيرالمصابة اعلى متوسط لوزن الحبوب الطري بلغ .129 غم .ويبين الجدول عدم وجود فروق معنوية بين المكافحة من عدمها وتبين النتائج وجود فروقات معنوية للتداخل الثنائي بين الصنف والإصابة اذ اعطى الصنف برشلونة غيرالمصاب اعلى متوسط لوزن الحبوب الطري اذ بلغ 182.9 غم وتلاه الصنف المحلي غير المصاب بمتوسط بلغ 135.2 غم .إما عن تأثير التداخل بين الصنف والمكافحة فتبين نتائج الجدول (20) وجود فروقات معنوية فيما بينها اذ اعطى الصنف برشلونة المكافح اعلى متوسط لوزن الحبوب الطري اذ بلغ 176.4 اما بالنسبة للتداخل الثنائي بين الآصابة والمكافحة فيبين الجدول وجود فروقات معنوية اذ كان متوسط الوزن الطري للحبوب اعلى في المعاملات المكافحة الغير مصابةاذ بلغ 134.2 غم اما فيما يخص التداخل الثلاثي بين الصنف والأصابة والمكافحة فتشير نتائج الجدول وجود فروقات معنوية اذ اعطى الصنف برشلونة غير المصاب المكافح اعلى متوسط للوزن الطري للحبوب اذ بلغ 193.9 غم وتلاه الصنف المحلي غير المصاب المكافح بمتوسط بلغ137.9 غم اما الصنف شابيلا المصاب غير المكافح فقد اعطى اقل وزن للحبوب الطري بلغ 34.8 غم وتلاه الصنف المحلي المصاب الغير مكافح بوزن طري بلغ 53.7 غم.ان سبب تفوق اوزان الحبوب للنبات الواحد في النباتات غير المصابة بالفطر *R.solani* والمعاملة بفطر المقاومة الأحيائي *T. harzianum* قد يعزى الى قدرة هذا الفطر في تحفيز نمو النبات من خلال قابليته على زيادة جاهزية العناصر او افرازه للهورمونات النباتية.اذ بينت العديد من الدراسات ان الفطر ليس فقط مقاوم احيائي وانما كمخصب حيوي Biofertilizer .(27)واثبتت نتائج هذه الدراسة كفائة الفطر *T. harzianum* في المكافحة الآحيائية إذ اختزل من نسبة الأصابة (جدول10) وشدة الآصابة (جدول11) وحث مقاومة النبات من خلال زيادة فعاليات انزيمات البيروكسيديز Peroxidase والبيتاكلوكانيز β-1,3glucanase والكايتينيز Chitinase وانزيم Poly phenol oxidase وانزيم Phenyl alanine ammonia lyase واختزال الخلايا الميتة , وعليه فأن جميع تلك الآليات (تحفز نمو النبات ومقاومته للمرض) ادت الى زيادة حاصل النبات من الحبوب في النباتات سواء كانت المصابة او غير المصابة مقارنة بتلك التي لم تعامل بهذا الفطر ولكافة الآصناف المدروسة.

جدول (11) تأثير المكافحة الحيوية بأستخدام الفطر *T. harzianum* والفطر الممرض *R.s* في وزن الحبوب الطري (غم/ نبات) لثلاثة اصناف من الباقلاء

الصنف	الاصابة	المكافحة		التداخل بين الصنف والإصابة
		مكافح	غير مكافح	
الصنف المحلي	مصاب	104	53.7	78.9
	غير مصاب	137.9	132.5	135.2
صنف شابيلا	مصاب	68.9	34.8	51.8
	غير مصاب	70.9	67.3	69.1
صنف برشلونة	مصاب	158.8	74.3	116.6
	غير مصاب	193.9	172	182.9
تأثير الصنف				
التداخل بين الصنف والمكافحة	الصنف المحلي	121	93.1	107
	صنف شابيلا	69.9	51.1	60.5
	صنف برشلونة	176.4	123.2	149.8
التداخل بين الإصابة والمكافحة	تأثيرالإصابة			
	مصاب	110.6	54.3	82.4
	غير مصاب	134.2	124	129.1
تأثير المكافحة		122.4	89.1	

LSD	الصنف	الإصابة	المكافحة	التداخل بين الصنف والإصابة	التداخل بين الصنف والمكافحة	التداخل بين الإصابة المكافحة	التداخل الثلاثي
5%	42.2	34.4	n.s	59.7	59.7	48.7	84.4

المصادر

1. Natalia, Gutierrez., C. M, Avila., M. T, Moreno., and A.M, Torres, 2008. Development of SCA Rmarkers linked to zt-2, one of the genes controlling absence oftannins in faba bean, Australian Journal of Agricultural Research, 59, pp 62–68.

2. Montealeger, J.; Valderrama, L.; Sanchez, S.; Herrera, R. Besoain, X.; Perez, L. (2010). Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoeswith *Trichoderma harzianum*mutants. Electronic J. Biotechnol.13(2),717-3458.

3. El-khallal, S.M. 2007. Induction and modulation of resistance in tomato plants against Fusarium wilt disease by bioagent fungi(arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (Jasmonicacid &Salicylic acid): 2-Changes in the antioxidantenzymes, phenolic compounds and pathogen related-proteins.Australian Journal of Basic and AppliedSciences, 1(4):717-732.

4. حسن,عبدالله عبد الكريم , الكرطاني, عبد الكريم عريبي, افتخار موسى, خلدون فارس, 2011. تقيم فعالية الفطر *Pleurotus* sp. كمبيد حيوي ضد ممرضاتالنبات:الديدان الثعبانية وفطريات التربة.المؤتمر العلمي الخامس,كلية الزراعة,جامعة تكريت,26_27 نيسان.

5. Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. Common. Mycol. Inst Surry,U.K. 237 PP.

6. Domasch, K.H. Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. Compendium ofsoil fungi. Vol.l Academic press. London.

7. Hammerschmidt.R.,Nuckles,Em.and Kuc,J.1982 Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to colletotrichum lagemarium. Physiology and plant pathology 20:73-82.

8. Pan,S.Q.,X.S.Ye and J.Kuc.1991 Association of β-1,3 glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould intobacco induced by stem injection with pernospara tabacive or leaf in oculation with tobacco mosaic virus. physiol. Mol. plantpathol., 39:25-39.

9. Tweddell,R.J.,S.H.Jabaji-Hare and P.M. charest , 1994. production of Chitinase and β-1,3 glucanase by stachy bortyseleyans, amycoparasite of *Rhizoctonia solani* Appl Environ. Microbiol., 60:489-495.

10. Mayer, A.M., Harel, E. and Shaul, R.B. 1965. Assay of catechol oxidaseacritical comparison of methods phytochemistry 5:783-789.

11. Assis, J.S., R. Maldonado, T. Munoz, M.I. Escribano and C. Merodio, 2001. Effect of high carbon dioxide concentration onPAL activity and Phenolic contents in ripeniny cherimoya fruit. Postharvest Bio. Techmol., 23:33-39.

12. Cooper, C. (1977). The Tools of Biochemistry. John Wily and Sons Inc. USA.

13. Mahadevan, A. and Sridhar, R.1986. Methods in physiological plantpathology. Sivakami publications, Indira nagar, India.

14. Mckinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. J.Agric. Res. 26: 195-217.

15. Bell, D, K,; Wells, H.D.; Markham. C.R. 1982. The in vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal. Plan. Pathol. Phytopathol. 72-382-379.

16. Ibraheem, B.Y. 2009. Induced biotypes from the fungus *Trichoderma*types to improve biocontrol and enhancement plant growth parameters. Ph.D. Thesis. College of Agriculture and Forestry,Mosul Univ., Iraq

17. Verma, M.; S.K. Brar; R.D. Tyagi; R.Y. Surampalli and J.R. Valero. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.; Panoply of biological Control .Biochemical Engineering Journal 37:1-20.

18. Howell, C.R. 2002. Cotton seedling preemergence damping - off by *Rhizoctonia orysae* and *Pythium* spp.and its biologicalControl with*Tichoderma* spp. Phytopathology 92:177-180.

19. Hibar, K.; M. Daami and M.El Mahjoud (2007). Induction of resistance in tomato plants aginst *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis lycopersici* by *Trichoderma*spp.. Tunisian J. Plant protect.2:47-58.

20. Dubos C and C. Plomion C.2011. Drought differentially affects expression of PR-10 protein in needles of maritime pine (*Pinus pinasterait*) seedling: J Exp. bot;52:1143-4.

21. Cota, I.E., R. Troncaso- Rojas. R. Sotelo -Mundo, A. Sanchez - Estrada and M.E. Tiznado - Hernandez, 2007. Chitinase and β-1,3 - glucanase enzymatic activities in response to infection by*Alternaria alternata*evaluated in two stages of development indifferent tomato fruit varieties. Scientica Horticulturae., 112:42-50.

22. Viterbo, A.; Inbar, J.; Hadar, Y.; Chet, I. 2007. "Plant Disease Biocontrol and Induced Resistance via Fungal Mycoparasites." In: Environment and Microbial Relationships 2nd ed. TheMycotaIv. (eds. C.P. kubicek and I.s. Druzhinina) Springer- Verlag Berlin Heidllberg, pp.127-146.

23. Lorito, M.; Harman, G.E.; Hayes, C.K.; BroadWay, R.M.; Tronsmo, A.; Woo, SL. and Dipietro, A.1993. Chitinolyticenzymesproducedby *Trichoderma harzianum*: Antifungal activity of purifiedendochitinase and chitinosidase. Phytopathology 83:302-307.

24. Jayalakshmi, S.K; Raju; S.; Usha Ra, S. ni; Benagi, V.I.; Sreeramulu, D. K. (2009). *Trichoderma harzianum*L1 as potential sourcefor lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against with disease caused 3, 44-52.

25. Zheng,H.Z.,C.I. Cui,Y.T.Zharg,D.wary, Yu.Jing and Y.K. Kum, 2005. Active changes of lignifications – related enzymes inpepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. J. Zhejiang Uni Sci., 6B(8):778-786.

26. Larkin, R. P .2004 . Development of integrated biological and cultural approaches for control of Powdery Scab and other soil borne disease. USDA, ARS, New England Plant, soil, and water labUni. of Maine, Orone.

27. Harman, G. E .2000 . The myths and dogmas of biocontrol Changes inpercptions derived from research on *Trichoderma harzianum*strain T – 22. Plant. Dis. 84 : 377 – 393.

28. Yigit, F.; Dikilitas, M. 2007. Control of Fusarium wilt of tomato by combination of fluorescent Pseudomonas, Non - pathogen *Fusarium*and *Trichoderma harzianum*T22 in greenhouse conditions, Plant Pathology, 6, 159-163.

29. Moradi, H.; Bahman, B.; Jahanshir, A.; Kavch, H.A. 2012. Suppression of chickpea (Cicerariekinum L.) Fusarium wilt by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum*. Omics J. POJ. 5, 68-74.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 22 (1) 2017

Isolation and identification of fungi associated with root rot disease in broad bean caused by *Rhizoctonia solani (*Kuhn)and select the disease suppresser species as biological control agents
2.Induced resistance markers by *Trichoderma harzianium*and their relationship with the disease and the plant productivity

Abdullah Abdulkareem Hassan , Maareb Ahmed Awad
Plant protection Departement , Agriculture College , Tikrit University , Tikrit , Iraq
Email: Abdullah_has67@yahoo.com

Abstract
The antagonism ability of the15 species of fungi associated with rot roots disease against the pathogen *R.solani* showed the growth of fungus *T. harzianum*was faster than the pathogen *R.s* which cover all area of the perti plate with the antagomism degree 1.33. A field experiment was carried out in 2011/2012 in Agriculture College /Tikrit University for the test of the induction of a systemic resistance by *T. harzianum*against root rot disease caused by *R.s* in three cultivars of broad bean. Shabila cultivar infected with *R.s* and treated with *T. harzianum*gave maximum seeds germination (98.67%) compared with 67.67% in the infected and untreated plants. Maximum specific activity of Peroxidase was 10.9 unit/mg protein recorded in the infected and treated (with *T. harzianum*) local cultivar,while maximum specific activity of β-1,3glucanase was 0.289 unit/mg protein recorded in the uninfected and treated local cultivar, in the infected and treated Barshlona cultivar, maximum specific activities of Chitinase and Phenyl alanine ammonialyase were 0.074 and 2.089 unit/mg protein, while maximum specific activity of Poly phenol oxidasewas 2.163 unit/mg protein recorded in the infected and treated Shabila cultivar.Maximum total phenols was 19.22 mg/g tissue recorded in the infected and treated local cultivar. *T. harzianum* reduce the percentage of dead cells from 75.3, 70.0 and 58.3% in the infected local,Shabila and Barshlona cultivars to 20.07,30.0 and 44.4% in the infected and treated these cultivars,respectively.in addition, *T.h* reduced the percentage of disease severity from, 44.67, 50.67 and 44.67% in the infected local,Shabila and Barshlona cultivars to 14.3, 23.67 and21.93% in the infected and treated these cultivars, respectively, while the productivity of these infected cultivars increased from 53.7,34.8 and 74.3 g of fresh seeds to 104,68 and 158.8 g of fresh seeds when treated with *T. harzianum*.

Keywords: root rot disease, broad bean , Induced resistance markers , biological control , *Rhizoctonia solani* , *Trichoderma harzianium* .