تقويم كفاءة فطريات المايكورايزا الشجيرية (Arbscular Mycorrhizae) في تحفيز مقاومة جذور الطماطة إتجاه الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول*

ثامر عبد الشهيد محسن الإبراهيمي
بتول زينل علي
قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة (إبن الهيثم)/ جامعة بغداد

استلم البحث في: ٢٧/كانون الثاني /٢٠١٥، قبل البحث في : ٢٥/ أذار /٢٠١٥

الخلاصة

أستهدف البحث دراسة تأثير خليط ثلاثة أنواع من فطريات المايكورايزا الشجيرية (*Glomus etunicatum*، *G. leptotichum* ، *Rhizophagus intraradices*) في تحفيز مقاومة جذور الطماطة المصابة بالفطر الممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* المسبب لمرض الذبول الفيوزارمي بعد 10 أسابيع زراعة وبوجود المادة العضوية البتموس (O) وإستعمال الأصص في البيت البلاستيكي . أظهرت النتائج زيادة معنوية لمؤشرات الإستيطان المايكورايزي المتضمنة (%F ، %M ، %m ، %a ، %A) كافة وظهرت أعلى نسبة إستيطان مايكورايزي بعد إصابة الجذور بالممرض بعد أربعة أسابيع من الاصابة بالممرض، بينما سجل أقل استيطان بالمايكورايزا عند التلويث بالممرض في بداية الزراعة . أدى الاستيطان المايكورايزي إلى خفض شدة المرض معنوياً في المعاملات كافة المفردة والمتداخلة ثنائياً وثلاثياً مقارنة بمعاملة السيطرة ، وأظهرت معاملة التداخل الثلاثي أعلى نسبة إنخفاض لشدة المرض بعد أربعة أسابيع من الاصابة بالممرض . كما أدى الاستيطان المايكورايزي إلى زيادة فعالية الأنزيمات المضادة للإكسدة والمتضمنة (SOD، POD، CAT، PPO، PAL، GPOX) معنوياً نتيجة تحفيز الخليط المايكورايزي لجذور الطماطة المصابة بالممرض، وسجلت أعلى فعالية لجميع الأنزيمات في معاملة التداخل الثنائي (M×*F.o.l* .) تلتها معاملة التداخل الثلاثي (M×*F.o.l* .×O) . بينما أدت المعاملات كافة المتضمنة إضافة المادة العضوية البتموس (O) إلى خفض معنوي لفعالية الأنزيمات المختبرة كافة .

الكلمات المفتاحية: خليط مايكورايزي ثلاثي، *Fusarium oxysporum*، نبات الطماطة، مضادات أكسدة أنزيمية ، المادة العضوية .

المقدمة

يعد محصول الطماطة من المحاصيل المهمة في غذاء الإنسان الذي يزرع عالمياً بشكل واسع وتحت نظام إنتاجي كبير. يتعرض هذا النبات إلى العديد من الأمراض أهمها مرض الذبول الفيوزاري وتعفن الجذور الفطر المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* وهو من فطريات التربة ، يعد هذا المرض من الأمراض الخطيرة التي تهدد محصول الطماطة وتؤدي إلى خسائر كبيرة في جميع أنحاء العالم [١]. أستعملت العديد من الستراتيجيات لمقاومة هذا المرض، منها استعمال المبيدات الفطرية [٢]. السيطرة باستعمال البيت الزجاجي [٣] واستعمال الفطريات المضادة Antagonistic fungi كأنواع فطر *Trichoderma* [٤].

بالرغم من ذلك فقد أظهر استعمال المبيدات بكميات كبيرة التي تعد الأكثر فعالية في مقاومة هذا الفطر، وبما أن الاستعمال المستمر لهذه المضادات الكيميائية يؤدي إلى تأثيرات سلبية خطيرة لصحة الإنسان والبيئة، فضلاً عن ظهور سلالات مقاومة من الفطريات تجاه هذه المضادات الفطرية [٥]. لذلك اتجهت الدراسات إلى إيجاد بدائل لهذه المواد وذلك باستعمال عوامل السيطرة الأحيائية ، من الأحياء المستعملة لذلك هي فطريات المايكورايزا الشجيرية Arbuscular Mycorrhiza (AM) التي تمثل فطريات تتكافل اجبارياً مع جذور ما يزيد عن 80% من النباتات الأرضية الراقية [٦].

تؤدي هذه الفطريات دوراً كبيرا في تحفيز نمو النبات تحت ظروف نقص بعض العناصر المغذية، فضلاً عن دورها في المنافسة مع ممرضات التربة على الغذاء و/ أو المكان، كما تحفز النبات على احداث تغييرات مورفولوجية في الجذور وتكوين حواجز دفاعية تركيبية مثل اللكنين وبروتينات جدار غنية بالهيدروكسيل مثل البرولين فضلاً عن إنتاج الأنزيمات [٦]. كما تؤدي إلى حصول تغييرات في المركبات البايوكيميائية التي لها علاقة باستجابة النبات للممرضات ومنها تجمع مركبات ال Phytoalexins وغيرها من مركبات الأيض الثانوي [٧]. فضلاً عن فعالياتها في تغيير المجاميع الميكروبية المضادة الموجودة في منطقة حول الجذر [٨] مما يؤدي إلى حماية النبات من الأمراض. أظهرت العديد من الدراسات إمتلاك النباتات لاليات دفاع اتجاه الممرضات الفطرية المختلفة في نباتات مختلفة عن طريق استحثاث المقاومة الجهازية وكإستجابة للمعاملة المسبقة لهذه النباتات بعوامل السيطرة الاحيائية ومنها فطريات المايكورايزا الشجيرية مما يجعلها مقاومة للإصابات اللاحقة [٩، ١٠، ١١].

أستهدفت الدراسة الحالية إختبار كفاءة خليط ثلاثة أنواع من المايكورايزا الشجيرية في السيطرة على مرض الذبول الفيوزارمي على الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* من خلال قياس شدة الإمراضية على الجذور والكشف عن أنزيمات الدفاع المضادة للأكسدة وتأثير الفطر الممرض في الأستيطان المايكورايزي تحت ظروف مختلفة من المعاملات.

طريقة العمل

-تنشيط المايكورايزا وتحضير التربة

تم الحصول على السماد الحيوي (البادىء الفطري) لثلاثة أنواع من المايكورايزا الشجيرية AM (*Glomus etunicatum*، *Glomus leptotichum*، *Rhizophagus intraradices*)، من قسم البحوث والدراسات / دائرة البستنة / وزارة الزراعة، يحتوي هذا السماد على أبواغ وغزل فطري وجذور مصابة في تربة مزيجية جافة مفحوصة مسبقاً، تم فحص السماد للتأكد من وجود الأبواغ الفطرية بطريقة النخل الرطب والتصفية حسب طريقة [١٢].

حضرت تربة مزيجية من شاطىء دجلة في منطقة الزعفرانية وغسلت حسب الطريقة المذكورة في [١٣] للحصول على تربة فقيرة بالمغذيات ، وعقمت حسب طريقة [١٤] للتخلص من الأحياء المجهرية وأجناس المايكورايزا المستوطنة فيها .

تم تنشيط الأنواع الثلاثة المايكورايزية عن طريق وضع طبقة Pad (السماد المايكورايزي) منها في أصص حاوية على تربة معقمة وفقيرة بالمغذيات وحاوية على صخر فوسفاتي مركز وزرعت فسقة البصل المعقمة وحسب الطريقة الموصوفة في [١٥]، ثم أضيف المحلول المغذي المحضر وكما جاء في [١٦]، وسقيت الأصص بالماء المعقم على أساس 50% من السعة الحقلية [١٧]، صبغت جذور نبات البصل بصبغة الفوكسين الحامضي للتأكد من الأصابة المايكورايزية للجذور وتنشيطها وحسب طريقة [١٨].

-تنشيط الفطر الممرض وإختبار الإصابة

تم الحصول على عزلة الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* من مركز البحوث الزراعية / وزارة الزراعة ، ونشط الفطر الممرض على وسط PDA ، وتم تأكيد التشخيص للفطر أعلاه إعتمادا على الصفات التصنيفية حسب [١٩] و[٢٠]، وأختبرت حساسية بذور الطماطة للإصابة بالفطر الممرض حسب طريقة [٢١] وذلك بظهور بقع بنية اللون أو necrosis على الجذور، لوثت بذور الدخن المحلي المعقمة بالممرض لغرض إكثار الفطر الممرض وإستعماله في التجربة اللاحقة وحسب طريقة [٢٢].

-التجربة في البيت البلاستيكي:

نفذت التجربة في البيت البلاستيكي حيث خلط البتموس (الماني المنشأ) المعقم مسبقاً مع التربة المزيجية الفقيرة والمعقمة وبنسبة 1.5% (٧٥ غم للأصيص الواحد)على أساس وزن التربة (٥ كيلو غرام في كل أصيص) ثم أضيف ٥٠ غم من الخليط المايكورايزي للأنواع الثلاثة مع ٥ غم من صخر الفوسفات (تركيز 12%) ، واضيف 25 مل من المحلول المغذي عند الزراعة وبعد أسبوعين زراعة، وأضيف 50 غم بذور دخن ملوثة بلقاح الفطر *F. oxysporum* إلى التربة المزيجية (نسبة 5% وزن/ وزن) [٢٢] لأصص المعاملات الملوثة وبثلاث مراحل (عند الزراعة$^{+}$0W، وبعد أسبوعين $^{+}$2W، وأربعة أسابيع زراعة $^{+}$4W)، كما أضيف 50غم بذور دخن معقمة فوق التربة المزيجية لكل أصيص سيطرة، ثم أضيفت لجميع المعاملات (20) بذرة طماطة لكل أصيص بعد تعقيمها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم وبتركيز 3.5% بحيث تلامس بذور الدخن وطبقة (pad) المايكورايزية والتربة، وغطيت جميع المعاملات ب50غرام من التربة المزيجية المعقمة. وبثلاثة مكررات لكل معاملة (تم إجراء 16 معاملة مختلفة من الخليط المايكورايزي الثلاثي والبتموس والممرض وتداخلاتها فضلا عن معاملة السيطرة)، وسقيت الأصص بكمية 750 مل من الماء المعقم لكل منها (نصف السعة الحقلية)، وتمت متابعة النباتات وسقيت كلما دعت الحاجة لضمان بقاء التربة رطبة، نفذت التجربة لمدة ١٠ أسابيع.

-حساب المحددات المايكورايزية وشدة الأمراضية ومضادات الأكسدة الإنزيمية:

تم حساب المحددات المايكورايزية وشدة الإصابة بالفطر الممرض والكشف عن مضادات الأكسدة الأنزيمية في جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع زراعة وكما يأتي:

أ- حساب المحددات المايكورايزية وإختبار كفاءة الإصابة:

تم حساب النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية للنظام الجذري F % [٢٣]، كثافة المستعمرات المايكورايزية في النظام الجذري M%، كثافة المستعمرات المايكورايزية في قطع الجذور m%، عدد الشجيرات في الأجزاء المايكورايزية للقطع الجذرية a% ووفرة الشجيرات في النظام الجذري A% [٢٤].

ب- تم قياس شدة الإصابة بالفطر الممرض للجذر حسب طريقة [٢٥].

ج- تقدير فعالية مضادة الأكسدة الأنزيمية ENZYMIC ANTIOXIDANTS:

تم الكشف عن فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة Superoxide dismutase (SOD) حسب طريقة [٢٦]، Peroxidase(POD) [٢٧]، Catalase (CAT) [٢٨]، Phenylalanine ammonia Lyase (PAL) [٢٩]، Polyphenol oxidase(PPO) [٣٠]، Glutathione Peroxidase (GPOX) [٣١].

- التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج SAS– Statistical Analysis System (٢٠١٢) [٣٢] لدراسة تأثير العوامل المدروسة وفق تجارب عاملة بتداخلات ثلاثية او ثنائية او تأثير عامل واحد بدون تداخل وفق تصميم عشوائي كامل في الصفات المدروسة وذلك باختلاف التجارب التي تم تطبيقها في هذه الدراسة، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (Least significant difference-LSD).

النتائج

١-تأثير المادة العضوية والممرض وتداخلهما في الإستيطان المايكورايزي:

أظهرت نتائج تأثير المادة العضوية (O) والممرض (*F.o.l* .) وتداخلهما في النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية F% بصورة مفردة ومتداخلة ثنائياً تأثيراً معنوياً في النسب المئوية للإصابة المايكورايزية للجذر بعد عشرة أسابيع من التجربة (جدول 1) يوضح زيادة النسبة المئوية للإصابة في المعاملات كافة المفردة والمزدوجة بعد أسبوعين وأربعة أسابيع من الإصابة بالممرض مقارنة بمعاملة النبات بسبورات فطريات المايكورايزا والممرض عند الزراعة ، إذ أظهرت المعاملات المفردة للممرض بعد أربعة أسابيع زراعة ($^{+}$4W) وإضافة المادة العضوية (O^{+}) زيادة النسبة إلى 98.34% و 94.17% للمعاملتين على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة (C) وعدم إضافة المادة العضوية (O^{-}) حيث بلغت 95.00% و87.50% على التوالي، أما معاملة التداخل الثنائي ($^{+}$4W×O^{+}) فوصلت النسبة إلى 100% مقارنة بمعاملة الإصابة عند الزراعة حيث بلغت 76.67%، كذلك الحال فقد أثرت المادة العضوية والممرض وتداخلهما في كثافة المستعمرات المايكورايزية في النظام الجذري (M%) (جدول 2)، فأظهرت المعاملات المفردة للممرض ($^{+}$4W) وإضافة المادة العضوية (O^{+}) زيادة في كثافة المستعمرات بلغت 22.15% و 18.82% على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة (C) وعدم إضافة المادة العضوية (O^{-}) حيث وصلت إلى 17.48% و 13.72% على التوالي، وكانت النتائج معنوية من حيث تأثير المادة العضوية والممرض في كثافة المستعمرات المايكورايزية في النظام الجذري، أما معاملة التداخل الثنائي فأدت إلى زيادة كثافة المستعمرات إلى 19.90% و 24.40% بعد أربعة أسابيع زراعة مقارنة بمعاملات السيطرة 12.73% و22.23% على التوالي، بينما سجلت أقل النتائج في معاملات الإصابة عند الزراعة 4.50% و5.57% على التوالي . أما (جدول ٣) الذي يوضح تأثير العاملين العضوي والممرض وتداخلهما في كثافة المستعمرات المايكورايزية في قطع الجذر (m%)، التي أظهرت فيها كذلك المعاملات المفردة للممرض ($^{+}$4W) وإضافة المادة العضوية (O^{+}) إلى زيادة هذه النسبة حيث سجلت 22.50% و 19.24% مقارنة بمعاملة السيطرة (C) وعدم إضافة المادة العضوية (O^{-}) حيث كانت النسب 18.19% و 14.96% على التوالي، كذلك الحال في التداخل الثنائي ($F.o.l.$×O^{+}) إذ وصلت أعلى النسب بعد أربعة أسابيع زراعة إصابة بالممرض 24.40% تلاه 23.07% بعد أسبوعين

إصابة ، في حين كانت أقل النسب إصابة عند الزراعة حيث بلغت 6.75% أما معاملة السيطرة كانت 14.15% وكان تأثير الممرض والمادة العضوية وتداخلهما معنوياً عند مستوى 0.05 في كثافة المستعمرات المايكورايزية في قطع الجذور. كذلك الحال في (جدول 4) الذي يظهر تأثير العامل العضوي والممرض بصورة مفردة ومتداخلة ثنائياً في وفرة الشجيرات (a%) في الأجزاء المايكورايزية للقطع الجذرية التي تفوقت معنويا بوجود الممرض ($4W^+$) و(O^+) كلاً على حدة كانت 82.58% و 68.96% مقارنة بالسيطرة (C) وعدم إضافة المادة العضوية (O^-) التي أعطت 54.07% و 44.26%على التتابع ، أما معاملة التداخل الثنائي (*F. o.l.*×O^+) فكانت معنوية أيضاً حيث سجلت أعلى النسب 95.16% للمعاملة بعد أربعة أسابيع أصابة تلاه أسبوعين إصابة حيث كانت 87.65% بينما كانت اقل النسب إصابة بالممرض عند الزراعة حيث بلغت 17.43% ، أما معاملة السيطرة فكانت 75.59% . كان تأثير (*F. o.l*) و (O) و (*F. o.l*×O) في وفرة الشجيرات في النظام الجذري (A%) في (جدول 5) تأثيراً معنوياً حيث كانت زيادة في كافة المعاملات مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة إضافة أبواغ المايكورايزا والممرض في الوقت نفسه ($0W^+$)، حيث أظهرت المعاملات المفردة للممرض ($4W^+$) و (O^+) نسباً مساوية إلى 18.57% و15.30% على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة 10.48% ومعاملة عدم إضافة البتموس 7.42%، أما معاملة التداخل الثنائي (*F.o.l.*×O^+) فأظهرت نسباً 23.22% بعد أربعة أسابيع إصابة 20.22% بعد أسبوعين إصابة مقارنة بالسيطرة 16.81% على التوالي. كخلاصة لكل الجداول السابقة (جدول ١-٥) يلاحظ إن كل مؤشرات الأستيطان المايكورايزي قد إزدادت بوجود الممرض والمادة العضوية بعد إصابة الجذور بالممرض بعد أسبوعين ($2W^+$) وأربعة أسابيع ($4W^+$) مقارنة بإصابة الممرض عند الزراعة ($0W^+$) التي أعطت أوطأ النسب.

٢- تأثير فطريات المايكورايزا والمادة العضوية والممرض في النسبة المئوية لشدة المرض Disease Severity:

أظهرت نتائج (جدول 6) إنخفاض النسبة المئوية لشدة المرض في المعاملات كافة المفردة والثنائية والثلاثية وبالنسب التالية، في المعاملات المفردة للمرض بعد أربعة أسابيع ($4W^+$) ، ووجود المايكورايزا (M^+) والمادة العضوية (O^+) تمثلت بالنسب 16.10% ، 17.98% ، 23.98% مقارنة بمعاملة عدم وجود الممرض (C) والمايكورايزا (M^-) والمادة العضوية (O^-) بلغت 43.38% ، 35.79% و 29.79% على التوالي، أما المعاملات المزدوجة (M×O) (M×*F.o.l .*) (*F.o.l.*×O) فكانت أقل النسب إصابة بالممرض 16.30% ، 12.08% و 14.70% مقارنة بزرعهما معاً في الوقت نفسه وللمعاملات الثلاثة على التوالي 39.92%، 20.13% و 17.50% علي التوالي، واظهرت معاملة التداخل الثلاثي أعلى نسبة انخفاض في شدة المرض وصلت إلى 10.90% مقارنة بزرعها معاً في الوقت نفسه 21.75% بعد عشرة أسابيع من الزراعة، وقد كانت النتائج معنوية للمعاملات الأحادية وللتداخل الثنائي والثلاثي.

٣-تأثير خليط المايكورايزا والمادة العضوية والممرض في فعالية أنزيمات الدفاع لمضادات الأكسدة:

أظهرت نتائج فعالية أنزيم SOD (جدول 7) إلى زيادة فعالية هذا الأنزيم معنوياً بمعاملة الجذور بفطريات المايكورايزا (M^+) والممرض بعد أربعة أسابيع ($4W^+$) كلاً على إنفراد حتى وصلت فعاليته بعد مرور ١٠ أسابيع من التجربة إلى 177.90% و 193.43% للمعاملتين على التوالي مقارنة بمعاملتي (M^-) و(C) والتي بلغت فيها الفعالية 90.95% و 123.48% على التوالي ، أما إضافة المادة العضوية (O^+) فقد أدت إلى خفض فعالية هذا الأنزيم معنوياً حتى وصلت إلى 126.50% مقارنة بعدم وجود المادة العضوية(O^-) وصلت إلى 142.35 % ،كذلك أدت معاملة التداخل الثنائية (*F.o.l.*$^+$.+M^+) إلى زيادة معنوية في فعالية الأنزيم حتى وصلت إلى 202.80% و 245.20% بعد مدتي الإصابة (أسبوعان وأربعة أسابيع) بالممرض على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة 169.50%، على العكس من ذلك أظهرت معاملتا التداخل الثنائي (O^+×M^+) والتداخل الثلاثي (M^+×$4W^+$×O^+) إلى خفض فعالية الأنزيم حتى وصلت إلى 167.20% و 229.60% للمعاملتين على التوالي مقارنة بمعاملتي (M^++O^-) و (M^+×$4W^+$×O^-) ازدادت النسبة إلى 188.60% و 260.80% على التوالي. أما أنزيم البيروكسيديز POD (جدول 8) فقد تفوقت فعالية الأنزيم معنوياً بمعاملة الجذور بالممرض ($4W^+$) وفطريات المايكورايزا (M^+) كلاً على إنفراد ووصلت فعاليته إلى 150.50% و137.96% للمعاملتين على التوالي بعد 10 أسابيع من التجربة مقارنة بمعاملة السيطرة (C) ومعاملة عدم إضافة المايكورايزا (M^-) 93.00% و67.00% على التوالي ، كذلك إزدادت فعالية الأنزيم في معاملة التداخل الثنائي (M^+×$4W^+$) حتى وصلت إلى أعلى فعالية 194.00% مقارنة بمعاملة (M^-×$4W^+$) فقد سجلت 107.00% ، أما المعاملات التي تضمنت إضافة المادة العضوية بمفردها (O^+) أو متداخلة مع المايكورايزا (M^+×O^+) أو المعاملة الثلاثية (M^+×$4W^+$×O^+) فأدت جميعها إلى خفض فعالية الأنزيم ووصلت بعد 10 أسابيع إلى 96.00% و 129.33% و 182.00% للمعاملات الثلاث على التوالي مقارنة بمعاملات (O^-) و (M^+×O^-) و (M^+×$4W^+$×O^-) انخفضت إلى 108.96% ، 146.58%، 206.00% على التوالي. أما أنزيم الكاتليز (جدول 9) فأظهرت معاملة الجذور بالممرض ($4W^+$) والمايكورايزا (M^+) كلاً على إنفراد والتداخل الثنائي (M^+×$4W^+$) إلى زيادة فعالية الأنزيم حتى وصلت بعد 10 أسابيع إلى 102.58% ، 91.87% و 141.67% للمعاملات الثلاث على التوالي مقارنة بمعاملات (C) و (M^-) و (M^-×$4W^+$) انخفضت إلى 50.67% ، 32.13% ، 63.50% على التوالي ، بالمقابل أظهرت المعاملات كافة المتضمنة اضافة المادة العضوية منفردة (O^+) أو المتداخلة ثنائياً (M^+×O^+) أو ثلاثياً (M^+×$4W^+$×O^+) إلى خفض فعالية الإنزيم إلى 55.46% ، 83.42% ، 131.33% للمعاملات الثلاث على التوالي مقارنة بنفس المعاملات وبدون إضافة المادة العضوية حيث ارتفعت فعالية الإنزيم ووصلت إلى 68.54% ، 100.33% و 152.00% على التوالي . كذلك الحال بالنسبة لأنزيم PAL (جدول 10) والتي أظهرت نتائجه حصول زيادة في فعالية الأنزيم للمعاملات المنفردة للمايكورايزا (M^+)

والممرض ($4W^+$) والمتداخلة ($4W^+ \times M^+$) وصلت إلى 3.94% ، 4.37% و 6.11% للمعاملات الثلاث على التوالي مقارنة بمعاملات (M^-) وعدم وجود الممرض (C) والمتداخلة ($4W^+ \times M^-$) حيث إنخفضت فعالية الإنزيم إلى أن وصلت إلى 1.41%، 2.24%، 2.64% على التوالي ، كما أدت المعاملات التي تضمنت إضافة المادة العضوية منفردة أو متداخلة ثنائياً ($M^+ \times O^+$) أو ثلاثياً ($M^+ \times 4W^+ \times O^+$) إلى خفض معنوي في فعالية الأنزيم وصلت بعد 10 أسابيع من التجربة إلى 2.36% ، 3.51% ، 5.52% للمعاملات الثلاث على التوالي مقارنة بعدم إضافة البتموس إلى المعاملات نفسها مما أدى إلى خفض فعالية الإنزيم حيث بلغت 2.99% ، 4.38% و 6.70% على التوالي . أما أنزيم PPO (جدول 11) فأظهرت النتائج نمط الفعالية للأنزيمات السابقة نفسها إذ ازدادت الفعالية بالمعاملات المفردة ($4W^+$)، (M^+) والتداخل الثنائي ($4W^+ \times M^+$) حتى وصلت الفعالية للمعاملات الثلاثة على التوالي بعد 10 أسابيع زراعة إلى 0.54% ، 0.49% و0.76% مقارنة بمعاملة السيطرة 0.29% وعدم إضافة المايكورايزا 0.18% ومعاملة ($4W^+ \times M^+$) 0.32% على التوالي ، وانخفضت الفعالية بالمعاملات المتضمنة إضافة المادة العضوية (O^+) أو متداخلة ثنائياً ($M^+ \times O^+$) أو ثلاثياً ($M^+ \times 4W^+ \times O^+$) حتى وصلت إلى 0.30% ، 0.45% ، 0.70% على التوالي مقارنة بمعاملات عدم إضافة البتموس ولنفس المعاملات 0.37% ، 0.54% ، O.82% على التوالي . أما أنزيم GPOX (جدول 12) فكانت زيادة معنوية في فعالية الأنزيم لمعاملة الممرض بعد أربعة أسابيع زراعة ($4W^+$) وإضافة المايكورايزا (M^+) المفردة والتداخل الثنائي ($4W^+ \times M^+$) حتى بلغت النسب للمعاملات إلى 135.45%، 125.33% و 175.25% على التوالي مقارنة بمعاملة عدم إضافة الممرض 85.06% وعدم إضافة المايكورايزا 60.41% ومعاملة التداخل الثنائي ($4W^+ \times M^-$) 95.66% على التوالي، كما أظهرت معاملات عدم إضافة المادة العضوية بصورة مفردة (O^-) أو متداخلة ثنائياً ($M^+ \times O^-$) أو ثلاثياً ($M^+ \times 4W^+ \times O^-$) الى زيادة معنوية في فعالية الإنزيم وصلت إلى 99.53% ، 134.09% و 186.50% على التوالي مقارنة بنفس المعاملات بإضافة المادة العضوية أدت إلى انخفاض الفعالية الأنزيمية إلى 86.21% ، 116.56% و 163.99% على التوالي . من نتائج تأثير العوامل الثلاثة في هذه الأنزيمات يلاحظ إن معاملة التداخل الثنائية (M×*F.o.l*) قد أعطت أعلى فعالية الإنزيمات كافة تلتها المعاملة الثلاثية (O×M×*F.o.l*)، كما أدت المعاملات كافة الحاوية على المادة العضوية إلى خفض فعالية الأنزيمات، كذلك فإن إصابة الجذور بالممرض بعد إسبوعين ($2W^+$) أو أربعة أسابيع ($4W^+$) من إصابتها بفطريات المايكورايزا قد أدت إلى زيادة فعالية الأنزيمات على التوالي مقارنة بإصابة النبات بالممرض والمايكورايزا عند الزراعة (OW^+).

المناقشة

إن زيادة مؤشرات الاستيطان المايكورايزي للجذور المايكورايزية كافة لنبات الطماطة المصابة بالفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* بعد إسبوعين وأربعة أسابيع من الإصابة تتفق مع نتائج دراسة [٣٣] التي وجد فيها إن عزلة الفطر *Fusarium oxysporum* غير المرضية (رمية المعيشة) قد أدت إلى زيادة الاستيطان المايكورايزي لنوعي المايكورايزا *G. mossae* و *G. deserticola* في جذور عدد من النباتات منها الذرة البيضاء Sorghum ، الطماطة والبازلاء ولكن لم يظهر هذا التأثير في نباتات أخرى مثل الذرة الصفراء ، الحنطة ، الخس والعدس عند تنميتها في تربة غير معقمة . أما [٣٤] فوجدوا كذلك اختلافاً في مستوى الإستيطان المايكورايزي للجذور المايكورايزية لعشرة أصناف من الطماطة بوجود الممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* ، إذ أظهرت الأصناف أما زيادة أو نقصان أو عدم تأثير في نسبة الإستيطان المايكورايزي بوجود الممرض . كما تتفق مع نتائج [٨] إذ أدت معاملة الجذور المايكورايزية لنبات *Leucanthemum* بالفطر الممرض *Rhizoctonia solani* إلى زيادة معنوية في مستوى الاستيطان المايكورايزي لثلاثة أنواع من المايكورايزا خاصة في عدد الشجيرات، كما أشار العالمان [٣٥] إلى زيادة مستوى الاستيطان المايكورايزي باستخدام الفطر المايكورايزي *G. fasciculatum* وبوجود فطر *F. oxysporum* بينما أظهر نفس الممرض خفضاً لمستوى إستيطان فطر المايكورايزا *Acaulospora laveis* في الدراسة نفسها . إن زيادة الإستيطان المايكورايزي ولاسيما عدد الشجيرات قد يكون نتيجة الإستجابة للشد Stress response إذ أن الشجيرات تمثل موقع تبادل المغذيات بين النبات والفطريات المايكورايزية [٣٦]. كما إن الشجيرات هي من علامات الحيوية Vitality لذلك من المحتمل أن يقوم النبات بنقل أو توزيع كميات كبيرة من الكاربون إلى الجذور مما يحفز فطريات AM لتجهيز مغذيات أكثر أو من الممكن أن تكون فطريات AM قد حفزت أليات أخرى بوجود الممرض [٣٧].

بالرغم من ذلك لاتتفق نتائج الدراسة الحالية مع عدد من الدراسات الأخرى ومنها دراسة [٣٨] التي أوضحوا فيها إن إصابة الجذور المايكورايزية بعد 5 أسابيع بالممرض *Phytophthora capsici* قد أدى إلى خفض نسبي أو قليل للاستيطان المايكورايزي . كذلك لاتتفق مع نتائج [١١] التي أظهرت إنخفاضاً في مستوى الاستيطان المايكورايزي في جذور نبات القطن المصابة بالفطر *Verticillium dehliae* . كما وجد [١٠] إن الفطر *F. solani* قد أدى إلى خفض مستويات الإستيطان المايكورايزي (F% ، M% ، A%) باستعمال خليط من ثلاثة أنواع من المايكورايزا في جذور نبات البازلاء المصاب بالفطر الممرض بعد ٣ أسابيع من الإستيطان المايكورايزي . وأوضحت هذه الدراسات إلى أن السبب يعود إلى تنافس الممرض مع فطريات المايكورايزا على المكان و/ أو الغذاء [١٠] فضلا عن ذلك فإن لإفرازات الجذور تأثيراً كبيراً في مستوى الإستيطان المايكورايزي للجذور [٣٨] لذلك قد يكون الفطر الممرض قد أثر سلباً أو قلل هذه الإفرازات مما أثر بالتالي في خفض الإستيطان المايكورايزي للجذور [١١]. وهذه الملاحظات قد تفسر إنخفاض مستوى الإستيطان المايكورايزي في جذور الطماطة في الدراسة الحالية في المعاملة المتضمنة إضافة فطريات

المايكورايزا وسبورات الممرض في نفس الوقت (عند بداية التجربة $0W^+$) . بالمقابل إزدادت هذه النسب بعد إصابة الجذور المايكورايزية للطماطة بعد أسبوعين وأربعة أسابيع بالممرض *F. oxysporum* التي خلال هذه المدة قد تكون فطريات AM قد نمت وتطورت وكونت شجيرات والتي تزيد من عملية تبادل المغذيات مع النبات فضلاً عن تكون تراكيب مايكورايزية أخرى والتي قد تحفز على تكوين وسائل دفاع اتجاه الممرض تحد من إصابته للجذور مقارنة بإضافة المايكورايزا والممرض في الوقت نفسه .

تتفق نتائج تأثير خليط المايكورايزا والفطر الممرض والمادة العضوية في النسبة المئوية لشدة المرض مع نتائج [١٠، ٣٧] إذ أشار هؤلاء الباحثين إلى أن من الميكانيكيات التي تتسبب عن فعالية المايكورايزيا تجاه الممرضات هي تحفيز فطريات المايكورايزا لعدد من الدفاعات في النبات العائل ، إضافة إلى حصول عدد من التغييرات البايوكيميائية والفسيولوجية عند إستيطان النبات من قبل المايكورايزا منها تغيير في أنماط Isozymes وأنزيمات الدفاع – 1, 3 – β glucanase, Chitosonase , Chitinase [٣٩]، كما أن فطريات المايكورايزا تحفز جذور العائل لإنتاج مواد أيض بتراكيز ملائمة تتجمع وتكسب المقاومة للجذور تجاه الممرضات ومن هذه المركبات هي التربينات والفينولات [٩] . إن النباتات المايكورايزية تكتسب حماية ضد الممرضات مقارنة بالنباتات غير المايكورايزية [٤٠]. وإن هذه الفعالية تختلف بإختلاف نوع وجنس الفطر المايكورايزي فضلاً عن ذلك فإن جمع أكثر من نوع مايكورايزي يعطي فاعلية أعلى لحماية النبات العائل من الفطر المايكورايزي المفرد [٤١].

تعد دراسة الأنزيمات المتعلقة بالدفاع المفاتيح لدراسة ميكانيكية مقاومة أي مرض نباتي من قبل العائل [٤٢]. إن زيادة فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة SOD، POD، CAT، PAL، PPO، GPOX في الدراسة الحالية نتيجة إصابة جذور النبات بفطر *F. oxysporum* أو نتيجة إستيطانها بخليط فطريات المايكورايزا أو في النباتات المايكورايزية المصابة بالممرض تتفق مع العديد من الدراسات ، فقد أوضح الباحثان [٤٣] زيادة فعالية أنزيمي POD و CAT اللذين يؤديان دوراً مهماً في أيض بيروكسيد الهيدروجين و/ أو عملية إرتباط البروتينات والسكريات المتعددة في الفراغ (أو المساحة) الداخلية ما بين الشجيرات والغشاء الخلوي للخلية النباتية . كما تتفق مع دراسة [٣٩] اللذين أوضحوا زيادة فعالية أنزيمات PPO ، POD ، PAL في جذور الطماطة الملقحة مسبقاً بفطريات المايكورايزا والمصابة لاحقاً بفطر *Phytophthora spp* . كما أوضح الباحث [٩] إن معاملة نبات البزاليا بفطر *Rhizoctonia solani* أدى إلى زيادة معنوية في فعالية أنزيمات SOD ، PPO ، CAT . كذلك أوضحت دراسة [٤٤] الفعالية العالية لأنزيم CAT والذي يشير إلى دوره الفعال في تنظيم نمو الفطر المايكورايزي داخل خلايا العائل فضلاً عن عملية التمايز Differentiation. وتتفق مع دراسة [٦] باستعمال خليط من أنواع المايكورايزا التابعة لجنس *Glomus* لتحفيز مقاومة نبات *Phaseolus vulgaris* اتجاه غزو الممرض *Rhizoctonia solani* إذ أظهرت النتائج زيادة فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة SOD، POD، CAT وأنزيمات اللكننة (PPO، PAL) مما أدى إلى زيادة مقاومة النبات اتجاه الممرض . كذلك أوضحت دراسة [٣٥] زيادة معنوية في فعالية أنزيمي POD و PPO في الجذور المايكورايزية مقارنة بمعاملة السيطرة. إن ميكانيكية عمل هذه الأنزيمات كأنزيم POD وهو من أنزيمات الأكسدة والإختزال إذ يساهم في بناء السكريات المتعددة للجدار الخلوي وأكسدة الفينولات وعملية السوبرة ولكننة جدران خلايا العائل خلال عملية الدفاع تجاه العوامل المرضية [٤٥]. أما أنزيم PPO فيدخل في أكسدة الفينولات المتعددة Polyphenols ويحولها إلى مركبات Quinones مضادة للأحياء المجهرية كما يدخل في عملية اللكننة لجدران خلايا النبات خلال إختراقها من قبل الممرض [٣٥] . أما أنزيم PAL فهو الأنزيم المفتاح لأيض المركب Phenyl propanoid في النباتات وهو الأنزيم الفعال في بناء المركبات الفينولية في نبات الطماطة، وإن فعالية هذا الأنزيم تتناسب طردياً مع تجمع اللكنين في جدران خلايا الطماطة مما يكسبها مقاومة تجاه الممرض [٣٩] أما أنزيم SOD فهو من الأنزيمات التي تعمل على إزالة (O_2 Superoxide anions (ROS) مما يؤدي إلى تجمع H_2O_2 والذي بدوره يختزل بواسطة بواسطة أنزيمي CAT و GPOX وبذلك يعمل هذا الأنزيم في المساعدة على منع Lipid peroxidation أو الضرر التأكسدي [٤٦]. وأخيراً فإن أنزيم GPOX والذي تمت دراسته في هذا البحث لأول مرة من ناحية دوره في حماية النبات المايكورايزي من غزو الفطر *F. oxysporum* فهو من الأنزيمات المضادة للأكسدة يعمل على إختزال H_2O_2 كذلك له القابلية على إزالة سمية المركبات الناتجة من عملية Lipid peroxidation [٤٧].

أما تأثير المادة العضوية في خفض فعالية الأنزيمات المختبرة كافة للمعاملات المتضمنة كافة إضافة المادة العضوية المفردة (O)، المزدوجة (O+M ، O+*F.o.l*) والثلاثية (O+M+*F.o.l*) فهي تتفق مع عدد من الدراسات التي أظهرت تفسيرات مختلفة ، فقد أشارت العديد من الدراسات إلى إضافة المادة العضوية يخفض حدوث المرض الناتج من ممرضات مختلفة (بكتيريا، فطريات، نيماتودا) تحت ظروف الزراعة في نظام البيت الزجاجي بإستخدام الكومبوست كمادة عضوية [٤٨] وفي التجارب الحقلية التي أظهرت إن إضافة الكومبوست أظهر فعالية مقاومة إحيائية تجاه الممرضات [٤٩]. والذي قد يكون ناتجاً من تأثير المادة العضوية في زيادة صحة وتغذية النبات مما يعطيه مقاومة تجاه الممرضات [٥٠]. أما الباحث [٥١] فقد أشار إلى إن وجود المادة العضوية في التربة تؤدي إلى ثباتية وعدم فعالية الأنزيمات وذلك بتكوينها Covalent bonding مع المادة العضوية مما قد يمنع أنزيمات الممرض ومهاجمته للعائل، كخلاصة للبحث تشير النتائج إلى إمكانية استعمال خليط من فطريات المايكورايزا في السيطرة الإحيائية من خلال تحفيز مقاومة نبات الطماطة اتجاه الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* المسبب لمرض الذبول .

جدول رقم (١): تأثير المادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلهما في النسبة المئوية للإصابة المايكورايزية للنظام الجذري F% على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

إضافة الخليط المايكورايزي الثلاثي عند الزراعة					
مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l*				تاثير مادة عضوية
	C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
O^-	90.00	66.67	96.67	96.67	87.50
O^+	100.00	76.67	100.00	100.00	94.17
LSD(0.05)	2.561				1.280
تأثير الممرض *F.o.l*	95.00	71.67	98.34	98.34	
LSD(0.05)	1.811				

جدول رقم (٢): تأثير المادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلهما في كثافة المستعمرات المايكورايزية في النظام الجذري M% على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

إضافة الخليط المايكورايزي الثلاثي عند الزراعة					
مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l*				تاثير مادة عضوية
	C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
O^-	12.73	4.50	17.73	19.90	13.72
O^+	22.23	5.57	23.07	24.40	18.82
LSD(0.05)	0.818				0.409
تأثير الممرض *F.o.l*	17.48	5.04	20.40	22.15	
LSD(0.05)	0.579				

جدول رقم (٣): تأثير المادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلهما في كثافة المستعمرات المايكورايزية في قطع الجذورm% على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

إضافة الخليط المايكورايزي الثلاثي عند الزراعة					
مادة عضوية	فطر ممرض F.o.l				تاثير مادة عضوية
	C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
O^-	14.15	6.75	18.34	20.59	14.96
O^+	22.23	7.26	23.07	24.40	19.24
LSD(0.05)	1.311				0.655
تأثير الممرض F.o.l	18.19	7.01	20.71	22.50	
LSD(0.05)	0.927				

جدول رقم (٤) تأثير المادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلهما في وفرة الشجيرات في الأجزاء المايكورايزية للقطع الجذرية a%على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

إضافة الخليط المايكورايزي الثلاثي عند الزراعة					
مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l*				تاثير مادة عضوية
	C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
O^-	32.54	12.15	62.37	69.99	44.26
O^+	75.59	17.43	87.65	95.16	68.96
LSD(0.05)	2.617				1.309
تأثير الممرض *F.o.l*	54.07	14.79	75.01	82.58	
LSD(0.05)	1.851				

جدول رقم (٥): تأثير المادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلهما في وفرة الشجيرات في النظام الجذري A% على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

إضافة الخليط المايكورايزي الثلاثي عند الزراعة					
مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l*				تأثير مادة عضوية
	C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
O^-	4.14	0.55	11.06	13.93	7.42
O^+	16.81	0.97	20.22	23.22	15.30
LSD(0.05)	1.224				0.612
تأثير الممرض *F.o.l*	10.48	0.76	15.64	18.57	
LSD(0.05)	0.865				

جدول رقم (٦): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في النسبة المئوية لشدة المرض Disease Severity% على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

خليط مايكورايزي ثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l*			تداخل مايكورايزي× عضوي M x O
		$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	65.00	33.00	21.75	39.92
	O^+	52.00	24.50	18.50	31.67
M^+	O^-	30.75	15.00	13.25	19.67
	O^+	25.75	12.25	10.90	16.30
LSD(0.05)		1.969			13.061
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l*					تأثير مايكورايزي
	M^-	58.50	28.75	20.13	35.79
	M^+	28.25	13.63	12.08	17.98
LSD(0.05)		4.614			0.804
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l*					تأثير مادة عضوية
	O^-	47.88	24.00	17.50	29.79
	O^+	38.88	18.38	14.70	23.98
LSD(0.05)		13.162			0.804
تأثير الممرض *F.o.l*		43.38	21.19	16.10	
LSD(0.05)		0.984			

جدول رقم (٧): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في فعالية أنزيم سوبر أوكسيديز دسميوتيزSOD (وحدة إمتصاص/ غرام وزن طري جذور) على نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	80.30	31.20	123.20	149.70	96.10
	O^+	74.40	25.60	109.60	133.60	85.80
M^+	O^-	178.40	100.00	215.20	260.80	188.60
	O^+	160.80	88.00	190.40	229.60	167.20
LSD(٠,٠٥)	3.123					42.604
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	77.35	28.40	116.40	141.65	90.95
	M^+	169.60	94.00	202.80	245.20	177.90
LSD(٠,٠٥)	11.583					1.108
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	129.35	65.60	169.20	205.25	142.35
	O^+	117.60	56.80	150.00	181.60	126.50
LSD(٠,٠٥)	56.416					1.108
تأثير الممرض *F.o.l.*	123.48	61.20	159.60	193.43		
LSD(0.05)	1.566					

جدول رقم (٨): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في فعالية أنزيم البيروكسيديز POD (تغير بالإمتصاص/ دقيقة/غرام وزن طري جذور) على نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	57.33	22.00	92.00	114.00	71.33
	O^+	52.67	18.00	80.00	100.00	62.67
M^+	O^-	139.00	73.33	168.00	206.00	146.58
	O^+	123.00	63.33	149.00	182.00	129.33
LSD(٠,٠٥)	2.721					34.410
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	55.00	20.00	86.00	107.00	67.00
	M^+	131.00	68.33	158.50	194.00	137.96
LSD(٠,٠٥)	9.393					0.962
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	98.17	47.67	130.00	160.00	108.96
	O^+	87.84	40.67	114.50	141.00	96.00
LSD(٠,٠٥)	46.355					0.962
تأثير الممرض *F.o.l.*	93.00	44.17	122.25	150.50		
LSD(0.05)	1.361					

جدول رقم (٩): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في فعالية أنزيم الكتاليز CAT (تغير بالإمتصاص/ دقيقة/غرام وزن طري جذور) على نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	17.33	8.00	50.67	71.00	36.75
	O^+	12.00	4.67	37.33	56.00	27.50
M^+	O^-	95.33	32.00	122.00	152.00	100.33
	O^+	78.00	21.00	103.33	131.33	83.42
LSD(٠,٠٥)	2.227					29.392
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	14.67	6.34	44.00	63.50	32.13
	M^+	86.67	26.50	112.67	141.67	91.87
LSD(٠,٠٥)	9.249					0.787
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	56.33	20.00	86.34	111.50	68.54
	O^+	45.00	12.84	70.33	93.67	55.46
LSD(٠,٠٥)	41.044					0.787
تأثير الممرض *F.o.l.*	50.67	16.42	78.33	102.58		
LSD(0.05)	1.113					

جدول رقم (١٠): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *F.o.l* وتداخلاتها في فعالية أنزيم الفنيل ألانين أمونيا ليز PAL (مايكروغرام حامض سينناميك/ ساعة/غرام وزن طري جذور) على نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	0.90	0.40	2.10	3.00	1.60
	O^+	0.77	0.27	1.55	2.27	1.22
M^+	O^-	4.10	1.40	5.30	6.70	4.38
	O^+	3.20	1.03	4.30	5.52	3.51
LSD(٠,٠٥)	0.368					1.236
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	0.84	0.34	1.83	2.64	1.41
	M^+	3.65	1.22	4.80	6.11	3.94
LSD(٠,٠٥)	0.518					0.130
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	2.50	0.90	3.70	4.85	2.99
	O^+	1.99	0.65	2.93	3.90	2.36
LSD(٠,٠٥)	1.762					0.130
تأثير الممرض *F.o.l.*	2.24	0.78	3.31	4.37		
LSD(0.05)	0.184					

جدول رقم (١١): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في فعالية أنزيم بولي فينول أوكسيديز PPO(مايكرومول كينون/ دقيقة) على جذور نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	0.13	0.06	0.25	0.36	0.20
	O^+	0.11	0.04	0.20	0.28	0.16
M^+	O^-	0.50	0.18	0.65	0.82	0.54
	O^+	0.40	0.15	0.54	0.70	0.45
LSD(٠,٠٥)	0.037					0.148
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	0.12	0.05	0.23	0.32	0.18
	M^+	0.45	0.17	0.60	0.76	0.49
LSD(٠,٠٥)	0.054					0.013
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	0.32	0.12	0.45	0.59	0.37
	O^+	0.26	0.10	0.37	0.49	0.30
LSD(٠,٠٥)	0.217					0.013
تأثير الممرض *F.o.l.*	0.29	0.11	0.41	0.54		
LSD(0.05)	0.019					

جدول رقم (١٢): تأثير الفطريات المايكورايزية والمادة العضوية والممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* وتداخلاتها في فعالية أنزيم الكلوتاثيون بيروكسيديز GPOX(وحدة إمتصاص/ غرام وزن طري جذور) على نبات الطماطة بعد عشرة أسابيع من الزراعة.

الخليط المايكورايزي الثلاثي	مادة عضوية	فطر ممرض *F.o.l.*				تداخل مايكورايزي×عضوي M x O
		C	$0W^+$	$2W^+$	$4W^+$	
M^-	O^-	52.45	20.90	83.60	102.89	64.96
	O^+	48.23	14.47	72.35	88.42	55.87
M^+	O^-	128.62	65.29	155.95	186.50	134.09
	O^+	110.93	56.27	135.05	163.99	116.56
LSD(٠,٠٥)	2.278					31.320
تداخل مايكورايزي × ممرض M x *F.o.l.*						تأثير مايكورايزي
	M^-	50.34	17.69	77.98	95.66	60.41
	M^+	119.78	60.78	145.50	175.25	125.33
LSD(٠,٠٥)	9.514					0.805
تداخل عضوي × ممرض O x *F.o.l.*						تأثير مادة عضوية
	O^-	90.54	43.10	119.78	144.70	99.53
	O^+	79.58	35.37	103.70	126.21	86.21
LSD(٠,٠٥)	42.480					0.805
تأثير الممرض *F.o.l.*	85.06	39.23	111.74	135.45		
LSD(0.05)	1.139					

المصادر

1- Ojha, S. & Chatterjee, N. C. (2012). Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycopersici* mediated through salicylic acid and *Trichoderma harzianum*. J. Plant Prot. Res., 52(2): 220-225.
2- Amini, J. & Sidovich, D. F. (2010). The effect of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* associated with *Fusarium* wilt of tomato. J. Plant Prot. Res., 50: 172-178.
3- Adkins, B. J. (2010). Overall growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L. C. V. Glacier) inoculated with species of *Glomus* and *Trichoderma* growing under greenhouse corditions California polytechnic state University, Horticulture and crop science department: 21 pp.
4- Sundaramoorthy, S. and Balabaskar, P. (2013). Biocontrol efficacy of *Trichoderma spp.* Against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* . J. Appl. Biol. Biotechn. 1(3) : 36- 40.
5- Agrios, G. N. (2004). Plant pathology. 5th edition Elsevier, Academic Press: 922 pp.
6- Hathout, T. A.; Felaifel, M. S.; El-Khallal, S. M.; Abo-Ghalia, H. H. & Gad, R. A. (2010). Biocontrol of *Phaseolus vulgaris* root rot using arbuscular mycorrhizae. Egypt. J. Agric. Res., 88(1): 15-29.
7- Sundaresan, P.; Ubalthoose Raja, N. & Gunasekaran, P. (1993). Induction and accumulation of phytoalexins in cow pea roots infected with a mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and their resistance to *Fusarium* wilt disease. J. Biosci., 18(2): 291-301.
8- Lewandowski, T. J.; Dunfield, K. E.; Antunes, P. M. (2013). Isolate identity determines plant tolerance to pathogen attack in assembled mycorrhizal communities. PLOS one, 8(4): 1-7.
9- El-Khallal, S. M. (2007). Induction and modulation of resistance in tomato planta against *Fusarium* wilt disease by bioagent fungi (Arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (Jaasmonic acid and salicylic acid): 1-Changes in growth, some metabolic activities and endogenous hormones related to defense mechanism. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 1(4): 691-705.
10- Al-Askar, A. A. & Rashad, Y. M. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agent against common Bean *Fusarium* root rot disease. Plant Pathol. J., 9(1): 31-38.
11- Kobra, N.; Jalil, K. &Youbert, G. (2009). Effects of three *Glomus* species as biocontrol agents against *Verticillium*- induced wilt in cotton. J. Plant Prot. Res., 49(2): 185-189.
12- Gerdemann, J.W. & Nicolson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., 46: 235-244.
13- Davies, F.T. & Linderman, R.G. (1991). Short term effects of phosphorus VA-mycorrhizal fungi on nutrition, growth and development of *Capsicum annuum* L. Scientia Horticulturae, 45: 333-338.
14- Louis, I. & Lime, G. (1988). Differential response in growth and mycorrhizal colonization of soybean to inoculation in soils of different availability. Plant and Soil 112: 37 – 43.
15- Owusn,-Bennoah, E. and Mosse, B. (1979). Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. New phytol., 87; 355-361.
16- Davies, F.T.; Puryear, J.D.; Neuton, R.J.; Janathan, N.E. & Saraiva Cross, J.A. (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). J. Plant Physiol., 158: 777-786.
١٧- الطائي، فزع محمود (٢٠١٠). تأثير فطريات المايكورايزا الحوصلية- الشجيرية (VAM) في نمو محصولي الذرة الصفراء وفول الصويا. مجلة علوم الرافدين، المجلد ١٨، العدد ٢، ٨-١٥.
١٨- Kormanik, P.; Bryan, P.; Craig, W. & Schultz, R.C. (1980). Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay can. J. Microbial., 26: 536-538.
١٩- Booth. C. (1971). The Genus Fusarium common wealt.Commomwelth Institute, Kew, Surrey, England.

٢٠- Leslie, J. F. & Summerell,B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual.Blackewll publishing.U.K.

٢١- Amran, M.(2005). Pathognicity test of *Fusarium verticillioides* on corn and formulation of *Bacillus subtilis* BS10 for seed treatment as biological control agent. Prosiding Seminar Nasional Jagung., 474-481.

٢٢- Dewan, M. M. (1989). Identity and frequency of occurrence of fungi in roots of Wheat and rye grass and their effect on take-all and host growth. Ph.D. thesis, Univ. Wes. Australia. 210 pp.

٢٣- Biermann, B. & R.G. Linderman (1981). Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. *New Phytol*., 87: 63-67.

٢٤- Trouvelot, A. Kough, J.L. and Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221.

٢٥- Rowe, R. C. (1980). Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America & Japan. Phytopathology, 70: 1143-1148.

٢٦- Beyer, F.W. & Fridowich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity. Some large Consequences of minor changes in conditions. Analy. Biochem., 161: 559-566.

٢٧- Nezih, M.1985.The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat. Food Agric. 36:877-880.

٢٨- Aebi,H.E.(1974).Catalase In :Methods of Enzymatic Analysis .(2): 673-684.

٢٩- Dickerson, D. P., Pascholati, S.F., Hagerman, A. E., Butler, L. G. and Nicholson, R. L. (1984). Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxy cinnamate: CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. Physiol. Plant Pathol., 25:111-123.

٣٠- Esterbauer. H., Schwarzl. E. & Hayn. M. (1977). Arapid assay for catechol oxidase and laccase using 2-nitro-5-thio benzoic acid. Analyt. Biochem., 77: 486–494.

٣١- Flohe, L. & Gunzler,W. A. (1984). Assay of glutathione peroxidase. Methods Enzymol 105: 115-121.

٣٢- SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

٣٣- Fracchia, S.; Garcia-Romera, I.; Godeas, A. & Ocampo, J. A. (2000). Effect of the saprophytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials. Plant & Soil, 223: 175-184.

٣٤- Steinkeller, S.; Hage-Ahmed, K.; Garcia-Garrido, J. M.; Illana, A. & Ocampo, J. A. (2012). Acomparison of wild-type, old and modern tomato cultivars in the interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycoersici*. Mycorrhiza, 22: 189-194.

٣٥- Manila, S. & Nelson, R. (2014). Biochemical changes induced in tomato as a result of arbuscular mycorrhizal fungal colonization and tomato wilt pathogen infection. Asian J. Plant Sci. & Res., 4(1): 62-68.

٣٦- Smith. S. E. and Read, D. J. (2008) . Mycorrhizal symbiosis . (2nd ed) . London . Academic press, San Diogo, California. U.K. 650pp.

٣٧- Wehner, J.; Antunes, P. M.; Powell, J. R.; Mazukatow, J. & Rilling, M. C. (2009). Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: Arole for fugal diversity? Pedobiol., 53: 197-201.

3٨- Baath, E. & Hayman, D. S. (1983). Plant-growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza: Interactions with *Verticillium* wilt on tomato plants. New Phytol., 95: 419-426.

٣٩- Pozo, M. J.; Verhage, A.; Garcia-Andrude, J.; Garcia, J. M. and Azcon-Aguilar, C. (2009). Primary plant defence against pathogens by arbuscular mycorrhizal fungi, In: C. Azcon-Aguilar (eds.). Mycorrhizas-functional processes and ecological impact. Chapter 9: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

4٠- Akthar, M. S. & Siddiqui, Z. A. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against plant pathogens. In mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry. Siddiqui Z. A., Akhtar M. S. and Futai K. (eds.). Springer. Netherlands.

4١- Maherali, H. & Klironomos, J. N. (2007). Influence of pathogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. Science, 316: 1746-1748.

4٢- Lukhandwala, A. R. & Bora, M. R. (2014). Changes acquired in peroxidase: A key marker in plant defense; upon root to root transfer of *Glomus geosporum* to 2(4): 1050-1059.

4٣- Blee, K. A. & Anderson, A. J. (2000). Defense responses in plants to arbuscular mycorrhizal fungi. In: Podila, G. K.; Douds, D. D. (eds.). Current advances in mycorrhizae research. Minnesota, USA: The American Phytopathological Society: 27-44.

4٤- Kumar, M.; Yadav, V.; Tuteja, N. & Johri, A. K. (2009). Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology, 155: 780-790.

4٥- Lin, C. C. and Kao, C. H. (2001) . Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and Nacl – inhibited root growth of rice seedlings. Plant Soil. 230 : 135-143.

4٦- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci., 7: 405-414.

4٧- Corral, M. G. (2013). Effects of WCIMV and root – flooding on white clover. M.SC. thesis. Otago univ., New Zealand. Pp.131.

4٨- Holtink, H. A. J. & Boehm, M. J. (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. Annu. Rev. Phytopathol., 37: 427-446.

٤٩- Bonilla, N. Gutierrez, J. A.; Vicente; A. & Cazorla, F. M. (2012). Enhancing soil quality and plant health through suppressive organic amendments. Diversity, 4: 475-491.

5٠- Koike, S. T.; Subbarao, K. V.; Davis, R. M. & Turini, T. A. (2003) . Vegetable diseases caused by soilborne pathogens . ANR . at http: //anrcatalog. ucdavis. edu.

5١- Pettit, R. E. (2004). Organic matter, Humus, Humate, humic acid and humin: Their importance in soil fertility and plant health (Online). www.humate.com.pdf/organicmatte.

Evaluation of the Efficacy of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Enhancing Resistance of *Lycopersicon esculentum* Roots Against *Fusarium oxysporum* Wilt Disease

Thamer A. Muhsen
Battol Z. Ali
Dept. of Biology/ College of Education For Pure Science-(Ibn-Al-Haitham)/ University of Baghdad

Received in: 27/January /2015, Accepted in: 25/March /2015

Abstract

The objective of this investigation was to study the effects of amixture of three arbuscular mycorrhizal species : *Glomus etunicatum , G. leptotichum* and *Rhizophagus intraradices* on the induced resistance of *Lycopersicon esculentum* roots infected with *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* which is causal agent of wilt in the presence of organic matter peatmose (O). The work was achieved in aplastic house (Shed) using pot culture planted for 10 weeks. Results indicated significant increase of all mycorrhizal colonization parameters (F% , M% , m% , a% , A%) . Highest percentage of mycorrhization was detected in roots infected with the pathogen 4 weeks after mycorrhizal colonization . On the other hand least colonization was shown in the dual inoculation treatment when both organisms were added together at the beginning of plantation . Mycorrhization resulted in significant reduction of disease severity in all treatments compared to the control ones. , and the trio treatment (O×*F.o.l.*×M) showed the highest reduction in percentage of disease severity after 4 weeks of infection with the pathogen . Moreover , mycorrhizal colonization significantly increase the activity of antioxidant enzymes tested (SOD , POD , CAT , PAL , PPO , GPOX) in infected roots , Highest enzymes activity was recorded in dual treatments (*F.o.l.* × M) followed by the trio treatment (O×*F.o.l.*×M) . On the other hand all treatments amended with organic matter resultrd in signifant reduction off all enzymes activity tested.

Key words : Mycorrhiza , *Fusarium oxysporum* , Tomato, Antioxidant enzymes , Organic matter.