دراسة تأثير معاملة نبات التبغ صنف البرلي بفطر *Trichoderma harzianum* ضد مرض الساق الأسود

محمود حسن(1) ورامز محمد(2) وطارق حسن(1)

(1). قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين،اللاذقية، سورية.

(2). قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تشرين،اللاذقية، سورية.

(* للمراسلة: م. طارق حسن. البريد الالكتروني: whatslove333@gmail.com)

تاريخ الاستلام: 2018/12/20 تاريخ القبول: 2020/02/19

ملخص

بينت هذه الدراسة الأثر الايجابي لمعاملة نباتات التبغ صنف البرلي بفطر التريكوديرما *Trichoderma harzianum* كمحرض للمقاومة الجهازية المكتسبة إزاء مرض الساق الأسود المتسبب عن الفطر, *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* في بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لورقة التبغ البرلي الجافة, وفي الإنتاجية (وزن رطب وجاف) بطريقتي الري والرش. وتبين أن أفضل الطريقتين كانت المعاملة بطريقة الري إذ زادت النسبة المئوية للكثافة الظاهرية للأوراق الجافة المعاملة بالفطر *T. harzianum* بطريقة الري وصلت إلى 40.55% مقارنة بالشاهد السليم 26.37%, ووصلت نسبة النيكوتين 1.78% مقارنة بالشاهد السليم إلى 1.95%, وأعطى أقل نسبة مئوية للكلور 0.75% مقارنة بالشاهد 0.72% وهي صفة ايجابية, وزادت نسبة النتروجين البروتيني (البروتين) المئوية إلى 12.68% بالمقارنة مع الشاهد السليم 11.43%, وأحدث ارتفاع في النسبة المئوية للمواد النتروجينية غير البروتينية (NPN) بنسبة 2.23% مقارنة بالشاهد السليم 1.75%. أما الإنتاجية فقد زادت المعاملة بالفطر *T. harzianum* بطريقة الري متوسط الوزن الرطب لأوراق النبات الواحد إلى 635.12 غ مقارنة بالشاهد السليم 395.56% كما زاد من متوسط الوزن الجاف لأوراق النبات الواحد إلى 66.3 غ مقارنة الشاهد السليم 41.4 غ.

كلمات مفتاحية: الكثافة الظاهرية, النيكوتين, الكلور, الوزن الجاف, *Trichoderma harzianum*, *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* , نبات التبغ البرلي.

المقدمة:

يعد التبغ *Nicotiana tabacum L* من المحاصيل الاقتصادية الصناعية الهامة على مستوى العالم كونه يدخل في السياسات المالية والاقتصادية للعديد من البلدان. (Naidu, 1999; Fowler, 1998) وفي سورية يسهم التبغ في تحقيق إيرادات لخزينة الدولة, وأرباح وعائدات كبيرة إضافة لتشغيل عدد الكبير من العائلات بالمحصول من الزراعة وحتى التسويق, (زهيري, 2011).

يصاب التبغ بالعديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية, ويعد مرض الساق الأسود المتسبب عن الفطر *Phytophthora parasitica* (Dast) var. *nicotianae* (B.de Haan)Tucker (*P .p* var *nicotianae*) من أهم الأمراض الفطرية التي تصيب التبغ في المشتل والحقل, ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة (Hernandez *et al,* 2010). وهو فطر يتبع صف الفطور البيضية Oomycetes, أهم الأعراض المميزة لمرض الساق الأسود تلون الجذور المصابة بلون أسود بشكل كلي أو جزئي, ويُظهِر المقطع الطولي للساق المصاب تعفن اللب وتحوله إلى أقراص منفصلة (Reynolds and Michael., 2006; Pratt, 2008؛ حسن, 2010).

يمكن إدارة المرض من خلال تكامل الإجراءات الزراعية, واستخدام المكافحة الكيميائية كمشتقات الميتالاكسيل (Lucas,1975; Shew and Lucas ,1991; Mila and Radcliff, 2014; De Beer and Terblanche 2011), واستخدام نباتات مقاومة إذ يعتبر هذا الإجراء الأكثر فاعلية (Sullivan *et al*., 2005), فقد أظهر النوعان *Nicotiana longiflora* و *N. Plumbaginifolia* مقاومة للفطر *P .p .var nicotianae* (Todd, 1981). كذلك تستخدم المكافحة الحيوية كبديل للمبيدات الصناعية الكيماوية نتيجة للازدياد الملحوظ في مستوى الأمان والتأثيرات البيئية الأقل, ومن أكثر عوامل المكافحة الحيوية استخداماً هو فطر التريكوديرما *Trichoderma* spp والذي طور إلى منتجات مكافحة حيوية بشكل تجاري تستخدم في الحقول والبيوت المحمية (Harman, 2000), وقد وجد Ge ورفاقه 2001 أن التريكوديرما قد استطاع أن يكافح *P .p. var. nicotianae* في البيوت الزجاجية والحقل بنسبة 97.6% و 67% على التوالي, و بيّن Islam & Singh عام 2010 القدرة العالية للفطر *Trichoderma harzianum* على منع نمو الفطر *Phytophthora nicotianae*. كما تستخدم المقاومة المستحثة أيضاً كنوع من المكافحات الصديقة للبيئة لرفع مقاومة النباتات ضد هجوم الممرضات وتُعرَّف المقاومة المستحثة على أنها تعبير عن آليات الدفاع الطبيعية في النبات المحرضة بعوامل خارجية إزاء مختلف الممرضات (Kuc, 1987; Schonbeck *et al*.,1993; Schneider *et al*.,1996; Benhamou and Picard,1999; Kuc, 2001). تقابل المقاومة المستحثة في النبات عملية التلقيح أو التحصين في الحيوان.(Hammerschmidt *et al*.,2001). تعمل بعض الفطور غير الممرضة على تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة كفطر التريكوديرما *T. harzianum* إذ تُعد آلية المقاومة المستحثة جهازياً من الآليات المكتشفة حديثاً للفطر *T. harzianum* , وتعتمد على تنشيط جزيئات استحثاث كيماوية Elicitor molecules (E.M) , أو بواسطة كائنات حية دقيقة غير ممرضة (De Meyer *et al*.1998).

يعد فطر التريكوديرما *Trichoderma Spp* عامل مكافحة حيوية, يتميز بتكلفته المنخفضة في مكافحة الأمراض الفطرية الجهازية المختلفة, وليس له تأثيرات في الأحياء المفيدة ولا في الإنسان والحياة البرية, فهو آمن وفعال في كل من البيئات الطبيعية والمتحكم بها, ولا يتراكم في السلسلة الغذائية, يمكنه غزو التربة أو أجزاء من النبات بسبب نموه السريع, كما ينتج مضادات حيوية تستطيع تثبيط نمو الممرضات, ويشجع على تطور النبات, ويحفز آليات دفاعية في النبات (Saba *et al*. 2012; Prisa, 2011) كما يمكنه استحثاث المقاومة الجهازية في النبات (De Meyer *et al*.,1998) إذ إن تنشيط ردود الدفاع عند النباتات عن طريق زيادة النشاطات الأنزيمية يمكن أن تكون إستراتيجية بديلة عن النباتات المعدلة وراثياً للوقاية من الممرضات, (Harman *et al*., 2004).

أما بالنسبة لتأثير الفطر *Trichoderma harzianum* على إنتاجية المحاصيل المعاملة به فقد أكد كل من Ha عام 2010 وSivan وآخرون عام 1987 قدرة الفطر *Trichoderma harzianum* على زيادة إنتاجية المحاصيل المعاملة بها.

– الكثافة الظاهرية لورقة التبغ Apparent density:

ترتبط هذه الصفة الفيزيائية المهمة بتركيب أو بنية ورقة التبغ وبمقدار احتوائها على المركبات الكيميائية النوعية. فالتبوغ التي تتسم أوراقها بكثافة ظاهرية مرتفعة تكون ألوانها غامقة (أوراق كثيفة), أما الأوراق ذات الكثافة الظاهرية المنخفضة فتعطي ألواناً فاتحة أو باهتة. وبشكل عام فإن كثافة ومحتوى أوراق التبغ تزداد بدءاً من الأوراق القاعدية باتجاه الأوراق العلوية على محور الساق الرئيسية حيث يحدث تغير في بنية الأوراق لتصبح أكثر ميلاً للاصفرار , وتزداد كثافة العصيبات مما يدل على احتوائها على نسبة أعلى من المركبات العضوية. (Davis and Nielsen,1999; Tso,1990)

– تقدير بعض المحتويات الكيميائية في أوراق التبغ الجافة Chemical Contents:

بيَّنت المراجع نسب بعض المحتويات كيميائية في أوراق التبغ البرلي الجافة, فقد وجد Tso عام 1990 أن حدود الكلور في ورقة التبغ البرلي يتراوح بين 0.5–1 % وأن زيادتها عن هذه الحدود تسهم بدور سلبياً في نوعية محصول التبغ نتيجة لتدني في صفة الاحتراق لأوراق التبغ بسبب تكوين الأملاح غير الذوابة للكلوريد ضمن منطقة الاحتراق (.Tso 1990; Pace *et al*. 2018, أما النتروجين البروتيني فإن ارتفاع نسبته في أوراق التبغ البرلي يعتبر أمراً إيجابياً إذ يحسن من سماكة الورقة وقوامها الإسفنجي المرغوب لامتصاص مواد التعسيل خلال مرحلة الصناعة, وتعد المركبات البروتينية من أهم المركبات النتروجينية ضمن ورقة التبغ البرلي مما ينعكس بشكل إيجابي على نوعية الأوراق الجافة, وزيادة نسبته لمستويات مرتفعة تدل على تدني نوعية أوراق التبغ الجافة لإسهامها في تحرير نكهات غير مرغوبة في المنتج النهائي من السجائر (Davis and Nielsen, 1999; Tobacco research bord, 1994), وأكد المصدر نفسه (Davis and Nielsen, 1999).أن زيادة النسبة المئوية للمواد النتروجينية غير البروتينية (NPN) في الأوراق الجافة دليل سلبي واضح على تدهور في نوعية أوراق التبغ. وحدد Tso 1990 النسبة المئوية للنيكوتين في الأوراق الجافة بين 2.74-4.18. وحدد Drachev وNikolova عام 2006 نسبة النيكوتين في نباتات التبغ البرلي في بلغاريا ما بين 2.17 –

3.16%, أما Tayoub وآخرون عام 2015 فقد حددوا النسبة المئوية للنيكوتين في الأوراق الجافة لنبات التبغ صنف البرلي في سورية بأقل من 3%.

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً للأضرار الكبيرة التي يسببها استخدام المبيدات الكيميائية, على الإنسان والبيئة, ونظراً لغياب فاعلية هذه المركبات في كبح مرض الساق الأسود على التبغ البرلي بسبب تشكيل مقاومة إزاءها, ورغبة في إنتاج مواد عضوية خالية من الأثر المتبقي للنبات, وتتميز بنوعية جيدة, فقد هدف البحث إلى دراسة تأثير معاملة نبات التبغ البرلي بالفطر *Trichoderma harzianum* في كبح الفطر المسبب لمرض الساق الأسود *Phytophthora parasitica* (Dast) var. *nicotianae* (B.de Haan)Tucker الذي يصيب التبغ البرلي من جهة, وأثره في إنتاجية ونوعية التبغ البرلي في سورية من جهة أخرى.

مواد البحث وطرائقه:

التجربة الحقلية:

أجري البحث في مزرعة وادي الدالي التابعة لقرية سمريان منطقة الصفصافة محافظة طرطوس (ارتفاع 25م عن سطح البحر), جهزت الأرض بما تحتاجه من سماد عضوي (5 طن/ دونم) ومعدني (35 كغ يوريا/ دونم و 35 كغ فوسفور/ دونم و 25 كغ بوتاس/ دونم) وفقاً لتحليل التربة تم القيام به في مخبر تحليل التربة التابع للبحوث الزراعية بطرطوس (بيت كمونة), تمَّ التشتيل عندما وصلت الشتول إلى المواصفات المناسبة للتشتيل بعمر 60 يوماً من تاريخ زراعة البذور في المساكب، وكانت بطول 12 سم وعدد الأوراق 6 أوراق والخالية من أي أعراض ظاهرية لأي مرض حيث المسافة بين كل نبات والذي يليه 60 سم وبين كل مكرر وآخر 1م وذلك وفقاً لتصميم القطع المنشقة– المنشقة -Split/ Split- Design/ بثلاث مكررات كل مكرر 10 نباتات (خدام, 2013).

– **المادة النباتية:** أستخدم في التجارب, صنف التبغ البرلي 21 (روديسي Burley 21, Rodesy Tobacco :(Br21, R)) وهو صنف يتراوح متوسط طول نباتاته بين 175 –190سم, وعدد الأوراق على النبات 26– 30 ورقة, متوسط طول الورقة 50–60 سم, لون الأوراق أخضر فاتح يميل إلى الاصفرار. يحتاج إلى تربة خصبة, ويزرع في السهول الساحلية والداخلية لسورية, بشكل مروي وبكثافة نباتية تتراوح بين 2–2.5 نبات / المتر المربع. تكتسب الأوراق بعد التجفيف اللون الكستنائي. الأنسجة متماسكة, ومرنة, ورقيقة, والرائحة والطعم مميزان. والنيكوتين 1.5–2% في حال عدم قطع النورة الزهرية.(الخضر ورفاقه, 2007)

– **المعاملة بالفطر *Trichoderma harzianum***

تمت معاملة النباتات بالفطر بطريقتين الري والرش بتاريخ 2016/6/2 رشاً على المجموع الخضري بمعلق فطر *Trichoderma harzianum* (عزلة محلية حصل عليها من مخبر الأعداء الحيوية في اللاذقية وهي معتمدة في مخبر تربية وإنتاج فطر التريكوديرما– دائرة المكافحة الحيوية– مديرية زراعة طرطوس) بمعدل 10 مل/ نبات, وتم الري بإجراء سقاية كل نبات باستخدام 30 مل/ نبات من المعلق بتركيز (10^6 بوغة/مل) وذلك بعد الري حتى لا يتم غسيل للأبواغ في

حال تم قبل الري (Abraham, 2005 ; أبو عرقوب, 2002) وذلك قبل الإعداء بالفطر الممرض ب 3 أيام (حُضر المعلق بحل طبق بتري حاوي على مستعمرة نقية من الفطر *Trichoderma harzianum* بعمر أسبوع في 1 ليتر ماء مقطر ثم رشحت عبر ورق ترشيح وخفف المعلق حتى الوصول للتركيز المطلوب). وعومل الشاهد بـ 10 مل من الماء المقطر بطريقة الرش, ورياً للجذور بـ 30 مل وفقاً(عتيق وآخرون ,2013)

– الإعداء بالفطر الممرض *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*:

أعديت النباتات بالفطر الممرض بعد 72 ساعة من المعاملة بفطر *Trichoderma harzianum* بإضافة قرص (قطر 1سم) من مستعمرة الفطر الممرض في حفرة بجانب الجذر, غطيت بالتراب ثم رطبت بالماء. (Tashkoski. 2013; (Dimitrieski *et al*. 2013

– قطاف الأوراق وتجفيفها:

أجريت عمليات القطاف في مرحلة النضج الفيزيولوجي بعد 40– 50 يوم من بداية التشتيل لنباتات كل معاملة من معاملات التجربة بمعدل 4–5 أوراق من كل نبات/ لكل قطفة. جففت أوراق كل معاملة على حدا وفقاً لتوصيات المؤسسة العامة للتبغ في الهواء (تجفيف بالظل) بدأت بمرحلة التصفير واستمرت حتى تغير لون الأوراق من الأخضر الفاتح إلى الأصفر، تلتها مرحلة تجفيف الصفيحة وفيها تكتسب الأوراق اللون الشوكولاتي المطلوب وتستمر من 18–22 يوماً، وأخيراً مرحلة تجفيف الضلع الرئيسي ومدتها 15–20 يوماً. (خدام, 2013)

حُللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي GenStat-12 وتمت المقارنة مابين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD عند مستوى معنوية 1%.

المؤشرات المدروسة:

1– الصفات الفيزيائية لورقة التبغ الجافة: (Davis and Nielsen,1999; Tso,1990)

حساب الكثافة الظاهرية أخذت 10 أوراق من كل معاملة, وأخذ من كل ورقة 4 دوائر بواسطة مسبر معدني على شكل أنبوب قطره الداخلي 1.6سم (تسمى زونبا) وبذلك تكون المساحة الكلية لـ 40 دائرة 80.38 سم^2 وضعت في جفنة معروفة الوزن ومن ثم وضعت في المجفف على حرارة 105 س° لمدة ساعة, حسب الكثافة من خلال القانون:

الكثافة الظاهرية = (الفرق ×100)/ المساحة الكلية

الفرق= الوزن الجفنة بعد التجفيف– وزن الجفنة الفارغ (وزن جاف)

المساحة الكلية = π ر^2 ×40

2– الصفات الكيميائية لورقة التبغ الجافة Chemical Contents:

أجريت التحاليل الكيميائية للعينات المُجففة في مخبر التحاليل الكيميائية في المؤسسة العامة للتبغ في اللاذقية (جبلة– الرميلة) وفقاً لـ (Aurand *et al*., 1987) مع بعض التعديلات (A,O,A,C., 2005). حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي GenStat-12, وتمت المقارنة مابين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD عند مستوى معنوية 1%.

تقدير الكلوريد (Cl): (بطريقة المعايرة)

تهيئة العينة وهضمها: أخذ 200 مغ من الأوراق المجففة لكل عينة, طحنت ووضعت ضمن بوتقة ثم يضاف لها 3 مل من خلات الكالسيوم 6% وتجفف على اللهب ثم وضعت ضمن مرمدة عند الدرجة 500 س° لمدة أربع ساعات ثم يضاف حوالي 15 مل ماء مقطر دافئ (ساخن) إلى العينة ثم يرشح محول العينة ضمن دورق معياري ويغسل القمع مع ورقة الترشيح عدة مرات بالماء المقطر الساخن حتى يصل حجم محلول العينة إلى 50 مل. ثم يضاف حوالي 2 نقطة من دليل كرومات البوتاسيوم 5% و يعاير المحلول بنترات الفضة 0.01 عياري حتى الحصول على اللون الأحمر الذي يدوم لأكثر من 5 ثوان مع الرج.

وتحسب النسبة المئوية للكلور:

$$Cl\% = \frac{V \times 0.01 \times 35.5 \times 100}{1000 \times \text{وزن العينة}}$$

V: حجم نترات الفضة المستهلكة (مل), 0.01: عيارية النترات, 35.5: وزن الكلور المكافئ, 100: نسبة مئوية. وزن العينة: يكون بعد طرح الرطوبة (مغ).

تقدير نسبة البروتين (النتروجين البروتيني): (بطريقة كلداهل)

قُدر النتروجين بطريقة كلداهل إذ هضم البروتين الطويل باستخدام حامض الكبريت المركز 98%, بعد اكتمال الهضم جرت عملية التقطير للتخلص من الأمونيا من كبريتات الأمونيوم بإضافة ماءات الصوديوم مع التسخين حيث تتجمع الأمونيا مع حامض الفوسفوريك H_3PO_4 فتتشكل بورات الأمونيوم التي تعاير كمرحلة نهائية بواسطة حمض كلور الماء HCL القياسي بوجود دليل مناسب لتحديد نقطة نهاية المعايرة.

ثم تحسب النسبة المئوية لنتروجين البروتينات بتطبيق العلاقة التالية:

$$\text{نتروجين البروتينات}\% = \frac{ح \times ع \times 14}{و} \times 100$$

حيث أن: ح: الحجم بالميلليتر من حمض كلور الماء المستهلك بالمعايرة. ع: عيارية الحمض= 0.1

14: كل ميليمكافئ أمونيا تحتوي 14 مغ نتروجين. و: الوزن الجاف خالي من الرطوبة بالميللغرام.

وبما أن البروتينات تحتوي حوالي سدس وزنها آزوت أي وسطياً 16% N نجد أن المعامل البروتيني:

$$\text{المعامل البروتيني} = \frac{100}{16} = 6.25$$

وبالتالي:النسبة المئوية للبروتينات %=N ×6.25

لمعرفة (NPN) المواد الآزوتية غير البروتينية تتم خطوات العمل نفسها باستثناء غسيل المواد الآزوتية غير البروتينية بحمض الخل وفي نهاية العملية برمتها يكون النتروجين المحسوب هو النتروجين الكلي وبالتالي:

NPN= (N) الكلي % - (N) البروتينات %

9- تقدير نسبة النيكوتين: (بالمعايرة)

– مبدأ التقدير :

تستخلص قلوئيدات التبغ بواسطة مزيج (بنزن + كلوروفورم) بوجود ماءات الباريوم ثم يقدر النيكوتين في المستخلص بواسطة حمض عياري وهو (بروكلوريك أسيد $HClO_4$).

ويتم حساب النسبة المئوية للنيكوتين بتطبيق المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للنيكوتين} = \frac{\text{ح}\times\text{ع}\times 162}{W}\times 100$$

حيث: ح × ع × 162= ميللمكافئ × 162

حُللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Genstat Release 12 وقورنت المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي Least Significant difference (LSD 1%) بين المعاملات المدروسة.

النتائج والمناقشة:

1- تأثير إضافة فطر التريكوديرما في الصفات الفيزيائية (الكثافة الظاهرية) لأوراق نبات التبغ البرلي:

يتبيَّن من الجدول (1) التأثير الايجابي لمعاملة نباتات التبغ البرلي بالفطر *T. harzianum* ضد مرض الساق الأسود في الكثافة الظاهرية لأوراق التبغ البرلي إذ أدت المعاملة بالفطر *T. harzianum* بطريقة الري لارتفاع في نسبة الكثافة الظاهرية لأوراق نبات التبغ البرلي وصلت حتى 40.55 % مقارنة بالشاهد السليم 26.37 % مع وجود فروق معنوية فيما بينها, وعدم وجود فروق معنوية مع الشاهد المعدى بالفطر الممرض 35.95 %, تلاه المعاملة بالفطر نفسه لكن بطريقة الري 37.85%, هنا يمكن أن يعزى الزيادة في الكثافة الظاهرية لأوراق التبغ البرلي المعداة بالفطر الممرض نتيجة لرد فعل النبات من خلال زيادة في لجننة الخلايا وبالتالي زيادة في سماكة الجدر الخلوية مما ينعكس إيجاباً على الكثافة الظاهرية. ولم نجد أي دراسة سابقة حول تأثير فطر التريكوديرما والفطر الممرض على الكثافة الظاهرية لأوراق التبغ البرلي الجافة. وتدل الزيادة في الكثافة الظاهرية للأوراق الجافة على نوعية ورق جيدة ذات محتوى جيد.

جدول (1) تأثير معاملة نبات التبغ البرلي بفطر *T. harzianum* على الكثافة الظاهرية لاوراق نباتات التبغ البرلي

العينة	الكثافة الظاهرية
شاهد سليم	26.37^{a}
شاهد معدى بـ *Phytophthora*	35.95^{b}
شاهد ري *Trichoderma*	42.1^{b}
شاهد رش *Trichoderma*	38.4^{b}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* ري	40.55^{b}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* رش	37.85^{b}
LSD 1%	5.72

المعاملات ذات الاحرف المتشابهة لايوجد بينها فروق معنوية

– تأثير إضافة فطر التريكوديرما في الصفات الكيميائية لأوراق التبغ البرلي:

يلاحظ من الجدول (2) التأثير الواضح للمعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* وفقاً لطريقتي المعاملة (ري ورش) في نسبة النيكوتين في أوراق التبغ البرلي الخاضع للتجربة, إذ وصل أعلاها عند المعاملة بطريقة الرش إلى 1.9% تلتها المعاملة بطريقة الري 1.78% مقارنة بالشاهد السليم 1.95% مع عدم وجود فروق معنوية فيما بينها, ووجود فروق معنوية مع الشاهد المعدي بالفطر الممرض 1.06% وهي جميعها ضمن الحدود التي وضعها Tso عام 1990 بين 1.2 -1.99%. وهذه الدراسة الأولى لتأثير معاملة نباتات التبغ البرلي بفطر التريكوديرما *Trichoderma harzianum* على نسبة النيكوتين في أوراقها الجافة.

ويتبين من الجدول (2) أن المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الري قد أعطت أقل نسبة كلور 0.75% وهي ميزة إيجابية تلتها المعاملة بطريقة الرش 0.77% مقارنة بالشاهد السليم 0.72% مع عدم وجود فروق معنوية فيما بينها ووجود فروق معنوية مع الشاهد المعدي بالفطر الممرض 0.85 %. يمكن القول أنه كلما ارتفعت نسبة الكلور زادت سلبية هذه الصفة لجهة احتراق ورقة التبغ نتيجة تشكل أملاح الكلوريد غير الذوابة ضمن منطقة الاحتراق. (Tso, 1999) ولم نجد أي دراسة تبين تأثير المعاملة بفطر *Trichoderma harzianum* على نسبة الكلور في أوراقها الجافة

أما بالنسبة للبروتين فيلاحظ ارتفاع في نسبته في الشاهد المعدي بالفطر الممرض وصلت إلى 15.18% وهي نسبة عالية وهنا يمكن اعتبارها صفة سلبية كونها تحرر نكهات غير مرغوبة في المنتج النهائي للتبغ (السجائر) مع وجود فروق معنوية بينه وبين باقي المعاملات, تلاه المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الري 12.68% مقارنة بالشاهد السليم 11.43% مع وجود فروق معنوية فيما بينها وهي صفة إيجابية جيدة ومرغوبة في أوراق التبغ. ولم نجد أي دراسة سابقة تبين تأثير فطر *Trichoderma harzianum* على نسبة البروتين في أوراقها الجافة.

ويتبين أيضاً ارتفاع في نسبة المواد النتروجينية غير البروتينية (**N**on **P**rotein **N**itrogen) (NPN) مقارنة بالحدود الطبيعية أعلاها 2.79% عند المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الرش مقارنة بالشاهد السليم 1.75% والشاهد المعدي بالفطر الممرض 2.28 % مع وجود فروق معنوية فيما بينها, تلتها المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الري 2.23% مقارنة مع الشاهد السليم 1.75% مع وجود فروق معنوية فيما بينها, والشاهد المعدي بالفطر الممرض 2.28 % بدون وجود فروق معنوية فيما بينها. ويلاحظ أن ارتفاع هذه المركبات يكون على حساب تدني النتروجين البروتيني. ولم نجد أي دراسة سابقة تبين تأثير فطر *Trichoderma harzianum* على نسبة (NPN) في أوراقها الجافة.

جدول (2) تأثير معاملة نباتات التبغ البرلي بفطر *T. harzianum* في بعض الخصائص الكيميائية لاوراقه

العينة	نيكوتين %	كلور %	بروتين %	NPN%
شاهد سليم	1.95^{b}	0.72^{a}	11.43^{a}	1.75^{a}
شاهد معدى *Phytophthora*	1.06^{a}	0.85^{b}	15.18^{c}	2.28^{b}
شاهد ري *Trichoderma*	1.81^{b}	0.78^{a}	12.73^{a}	2.28^{b}
شاهد رش *Trichoderma*	1.96^{b}	0.79^{a}	11.22^{a}	2.84^{c}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* ري	1.78^{b}	0.75^{a}	12.68^{b}	2.23^{b}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* رش	1.9^{b}	0.77^{a}	11.13^{a}	2.79^{c}
standard	1.2- 1.99	0.6-1	11.56- 9.38	0.85-1.09
LSD 1%	0.34	0.12	0.77	0.31

المعاملات ذات الأحرف المتشابهة لايوجد بينها فروق معنوية.

– تأثير إضافة فطر التريكوديرما على إنتاجية التبغ البرلي

يلاحظ من الجدول (3) أن المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الري أدت لزيادة في الإنتاج من خلال زيادة في متوسط الوزن الرطب لأوراق نبات التبغ البرلي المعاملة به 635.12 غ مقارنة الشاهد السليم 395.56 غ وبينما خُفِّض الإنتاج في الشاهد المعدي بالفطر الممرض إلى 253.76 غ مع وجود فروق معنوية فيما بين المعاملات

السابقة, تلتها المعاملة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الرش 565.8 غ مقارنة الشاهد السليم 395.56 غ وبينما خفض الإنتاج في الشاهد المعدى بالفطر الممرض إلى 253.76 غ مع وجود فروق معنوية فيما بين المعاملات السابقة. أما بالنسبة للإنتاج من الوزن الجاف فيبين الجدول (3) أن المعاملة بالفطر التريكوديرما *T. harzianum* بطريقة الري قد أدت لزيادة في متوسط الوزن الجاف لأوراق نبات التبغ البرلي 66.3 غ تلتها المعاملة بطريقة الرش لنفس الفطر 62.21 غ مقارنة بالشاهد السليم 41.4 غ ويلاحظ انخفاض الوزن الجاف في الشاهد المعامل بالفطر الممرض 24.6 غ مع وجود فروق معنوية بين كلٍّ من المعاملتين وكلٍّ من الشاهدين السليم والمعدي. وهذه النتيجة متفقة مع (Ha, 2010; Sivan *et al.* 1987) لجهة قدرة الفطر تريكوديرما على زيادة إنتاجية المحاصيل المعاملة به

جدول (3) تأثير اضافة بفطر التريكوديرما *T. harzianum* في إنتاجية متوسط الوزن الرطب والجاف لاوراق التبغ البرلي مقدرة بالغرام

العينة	الوزن الرطب (غرام)	الوزن الجاف (غرام)
شاهد سليم	395.56^{b}	41.4^{b}
شاهد معدي بـ *Phytophthora*	253.76^{a}	24.6^{a}
شاهد ري *Trichoderma*	641.3^{d}	69.81^{d}
شاهد رش *Trichoderma*	576.8^{c}	63.78^{c}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* ري	635.12^{d}	66.3^{cd}
فطر ممرض *Phytophthora* + *Trichoderma* رش	565.8^{c}	62.21^{c}
LSD 5%	33.2	5.01

المعاملات ذات الاحرف المتشابهة لايوجد بينها فروق معنوية

الاستنتاجات:

1- مما سبق نستنتج التأثير الايجابي لمعاملة نباتات التبغ صنف البرلي بفطر *Trichoderma harzianum* والمُعداة بالفطر الممرض *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* المسبب لمرض الساق الأسود لجهة الصفات الفيزيائية والكيميائية لأوراق التبغ المعاملة.

2- ازدياد إنتاجية نبات التبغ البرلي من الوزن الرطب والجاف عند المعاملة بالفطر *Trichoderma harzianum* لمقاومة مرض الساق الأسود الناتج عن الفطر *Phytophthora parasitica* var *nicotianae*.

3- نوصي باستخدام مواد أخرى ذات فعالية على مرض الساق الأسود وذات نتائج ايجابية على المواصفات الفيزيائية والكيميائية لأوراق التبغ صنف البرلي, وعلى إنتاجيته.

المراجع:

أبو عرقوب؛ محمود موسى (2002). المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة – مستحثة – حيوية) ودورها في أمراض النبات. المكتبة الأكاديمية. 714 ص

الخضر،أحمد؛ بدر, جابر؛ عماد, إسماعيل. (2007). دليل المرشد الزراعي لتحسين إنتاج التبغ .إصدارات المؤسسة العامة للتبغ 133 ص.

حسن, طارق (2010). دراسة مرض الساق الأسود على التبغ ورد فعل بعض أصناف التبغ المزروعة محلياً تجاهه. رسالة ماجستير . جامعة تشرين . كلية الزراعة . قسم وقاية النبات . 103 ص

خدام , مازن (2013): مساهمة في إيجاد بعض وسائل الوقاية من الإصابة بفيروس واي البطاطا على صنفي التبغ برلي وفرجينيا في سورية. رسالة دكتوراه – جامعة تشرين .كلية الزراعة. قسم وقاية النبات. 140 ص.

زهيري, زين الدين (2011): اتجاهات تطور إنتاج واستهلاك التبغ في سورية وآثاره الاقتصادية والاجتماعية. مجلة جامعة تشرين . 5, 123− 140

عتيق، عمر؛ أحمد الأحمد؛ محمد أبو شعر؛ محمد موفق بيرق ومصطفى خطيب (2013). تحريض المقاومة الجهازية المكتسبة في نبات البندورة /الطماطم إزاء الأمراض التي تحدثها بعض الأنواع من الفطر *Alternaria* . مجلة وقاية النبات العربية ، 31 (2)، 168− 176.

Abraham. A. D. 2005. Biological Control Of *Phytophthora* Root Rot of Citrus Seedlings and Cuttings. Master Thesis. University of Kwazulu- Natal Pietermaritzburg. PP. 126pp.

A. O. A. C, 2005. Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Methods. 18th Edition, Published by AOAC International , Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, U S A.

Aurand, L.W; A. E. Woods;. and M. R. Wells. 1987. Food composition and analysis. Published by Van Nostrand Reinhold Company, New York 665 p.p.

Benhamou N and K. Picard 1999. La résistance induite: une nouvelle stratégie de défense des plantescontre les agents pathogènes. Phytoprotection. 80: 137-168,

Darchev. D; V. Nikolova. 2006 Comparative Technological Study of the Tobacco of Burley Variety Group Grown in Bulgaria, Biotechnology & Biotechnological Equipment,20:2, 188-194.

Davis. D. L; M. T. Nielsen. 1999. Tobacco Production, Chemistry and Technology. Blackwell Science, Inc. Commerce Place, Malden, USA. 476 page

De Beer. M. C., J. Terblanche. 2011. Black Shank Resistance in Air- Cured Tobacco – South Africa. CORESTA. Abstracts- Agro/ Phyto – Santiago De Chile.

De Meyer, G; J. Bigirimana; Y. Elad; and M. Hofte. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of Botrytis cinerea. Eur. J. Plant Pathol. 104:279-286.

Dimitrieski. M; G. Miceska; A. Korubin; ALEKSOSKA. 2013. Productional Characteristics of Some Oriental Tobacco Lines Resistant to Black Shank (*Phytophthora Parasitica* var *nicotianae*). Tytyh/Tobacco,Vol.63. N°7-12. 1-7,

Fowler, S, 1998. Tobacco. Southern Illinois University Carbondale / Ethnobotanical Leaflets /.

Ge. W; L. Song; M. Yonhgkai; W. Yingqi; Z. Weiming; L. Zhengguo.2001. Study on the antagonistic mechanism of Trichoderma sp. For Phytophthora nicotianae and it's biocontrol effect. CORESTA Meet. Agro-Phyto Groups, Cape Town, abstr. PPOST7.

Ha. Tran N. 2010. Using Trichoderma Species For Biological Control of Plant Pathogens in Viet Nam. J. Issans Vol. 16. No.1: 17- 21

Hammerschmidt R, J. P. Métraux, L.C. Van Loon.2001. Inducing resistance: A summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. Eur J Plant Pathol. 107:1-6.

Harman, G. E; C. R .Howell; A. Viterbo; I. Chet; and M. Lorito.2004. Trichoderma species-opportunistic, a virulent plant symbionts. Nature Reviews, 2: 43-56.

Harman. G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perception derived from research on *Trichoderma harzianum* strain T-22. Plant Disease Report.84(4): 377-393

Hernandez, I; O. Borras; O. Chacon; M. Pujol; Y. Lopez; R. Rodrigues, R; R. Portieles. 2010. Demonstration by RNA interference of anew molecular mechanism for resistance to an Oomycetes in tobacco plants Biotecnologia Aplicada. Vol. 27, No.3

Kuc J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. Eur J Plant Pathol. 107:7-12.

Kuc J. 1987. Translocated signals for plant immunization. Ann NY Acad Sci. 494: 221-223.

Lucas, G. B. 1975. Disease of tobacco, 3rd ed. Biological Consulting Associates, Box 5726, Raleigh, NC. p.407.

Mila. A. L; J. 2014. Radcliff. Managing Diseases In Flue- cured Tobacco Guide. N. C Copp. Ext. Serv. Bull. North Carolina State University. Raleigh. Pp. 124- 156.

Naidu, S, K, 1999. Tobacco: Production, chemistry and technology. edited by D. L. Davis and M. T. Nielson, Blackwell Science Ltd, Osny Mead, Oxford OX2 OEL. Hardback . 467P.

Pace. C. R; M. C. Vann; L. R. Fisher; R. Seagroves; D. H. Hardy. 2018: The Effect Of Chloride Application Rate to Yield Quality, and Chemistry of Flue- Cured Tobacco . 48 Th Twc, Tab. Work. Conf

Pratt, K, 2008. Black Shank Cases increasing. University of Kentucky.

Prisa. D. 2011. Trichoderma spp. In Innovative Substrates For Ornamentals Plants. PhD. Thesis in Science of Crop Production. University of Pisa. Italy. 77 pages

Reynolds, R, J; J. MICHAEL MOORE. 2006. Targt Spot or Sore Shin of Tobacco. The University of Georgia.

Saba. H; D. Vibhash; M. Manisha, K. S. Prashant; H. T. H Farhan; A. Useef. 2012. Trichoderma– a promising plant growth stimulator and biocontrol agent, Doi 10.5943 /mycosphere/3/4/14. Mycosphere 3 :4. 524–531

Schneider M, P. Schweizer; P. Meuwly; J. P. Métraux. 1996 Systemic acquired resistance in plants. Intern Rev Cytology. 168:303-340.

Schönbeck F, U. Steiner and T. Kraska.1993. Induzierte Resistenz Kriterien, Mechanismen, Anwendung und Bewertung. J Plant Dis Protection. 100: 541 557, 1993.

Shew. H. D; G. B. Lucas. 1991 Compendium of Tobacco Disease . APS Press , St. Paul, M.N.

Singh. A; M. N. Islam. 2010. In Vitro Evaluation of Trichoderma Spp against *Phytophthora nicotianae*. Int.J.Expt.Agric.1(1). 20-25.

Sivan, A; Chet, I. 1989. Degradation of Fungal Cell Walls By Lytic Enzymes of *Trichoderma harzianum.* Journal of General Microbiology , 135, 675-682.

Sullivan, J. M., T. A. Melton; and H. D. Shew.2005. Managing the race structure of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* with cultivar rotation. Plant Dis. 89:1285-1294.

Tashkoski. P: 2013. Antagonism of *Trichoderma Asperellum* to *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* . TYTYH/Tobacco, Vol.63,N 7-12, 45-53.

Tayoub. G, H. Sulaeman; M. Alorfi. 2015. Determination of nicotine levels in the leaves of some nicotianae tabacum varieties cultivated in Syria. Herba. Polonica vol. 61 no. 4

Tobacco Research Board (1994). Nitrogen application on new cultivars. In: Annual Research Report. Harare.

Todd. F. A. 1981. Flue Cured Tobacco- Producing a Healthy Crop, Tobacco Consultants, Wendell, NC. 350 pages

Tso. T. C. 1990. Production, Physiology and Biochemistry of Tobacco Plant. Ideals, Inc, Beltsille, Maryland. 785 pages

The Effect of Treatment of Tobacco Plant cv. Burley with *Trichoderma harzianum* Against Tobacco Black Shank Disease

Mahmoud Hasan[(1)], Ramez Mohammad[(2)] and Tarek Hasan[* (1)]

(1). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.
(2). Department of Nutritive Science, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.
(*Corresponding author: Tarek Hasan . E-Mail: whatslove333@gmail.com)

Received: 20/12/2018 Accepted: 19/02/2020

Abstract

This study showed the positive effect of treating tobacco plants burley variety by Trichoderma fungus *Trichoderma harzianum* as a stimulator of systemic acquired resistance against tobacco black shank disease caused by *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* on some physical and chemical qualities of the dry burley leaves, and on the yield (fresh and dry weight) by irrigation and spraying methods. It was clear that best methods was by irrigation which increased the percentage of the apparent density of the dry leaves treated by *T. harzianum* reached to 40.55% compared with healthy control 26.37%, and the nicotine percentage reached to 1.78% compared by healthy control 1.95% , and gave less percentage of chloride 0.75% compared to healthy control 0.72% which is a positive quality, and increased the percentage of protein to 12.68% and the healthy control 11.43%, there were increased in the non-protein nitrogen (NPN) to 2.23% compared with healthy control 1.75%. The yield increased by treatment with *T. harzianum* by irrigation method which increased the average of fresh weight of leaves of one plant to 635.12 g compared with healthy control 395.56 g, and increased of the average of dry weight of leaves of one plant to 66.3 g compared with healthy control 41.4 g.

Kay Wards: Apparent Density, Nicotine. Chloride, Dry Weight, *Trichoderma harzianum*, Burley Tobacco Plant.