فعالية فطري المكافحة الأحيائية *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma citrinoviride* لمكافحة مرض تقرح ساق القرنابيط

قيس ماجد عبيد وديجة محسن خضير
جامعة بغداد / كلية الزراعة - قسم وقاية النبات
بغداد – العراق

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تقويم فاعلية الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* في كبح الاصابة بمرض سقوط البادرات وتقرح سيقان نباتات القرنابيط المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kühn.

اظهرت نتائج العزل من النباتات المصابة التي جمعت من مشاتل وحقول القرنابيط، الحصول على 6 عزلات للفطر *R. solani*، واظهرت نتائج المقدرة الامراضية ان جميع العزلات كانت ممرضة وكانت العزلة R3 الاكثر امراضية اذ ثبطت انبات بذور القرنابيط بالكامل ولم تظهر الهجن والاصناف المختبرة اي مقاومة للفطر.

اظهر الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* مقدرة تضادية عادية باستخدام تقانة الزرع المزدوج ضد الفطر *R. solani* على الوسط الزرعي Potato Dextros Agar (PDA) تحت ظروف المختبر. اظهرت نتائج تجربة البيت الزجاجي ان اضافة العوامل الاحيائية عند الشتل وعند الزراعة والتدعيم عند الشتل قد حققت خفضا معنويا في نسبة الاصابة ودليل شدة مرض تقرح ساق نباتات القرنابيط وزيادة النسبة المئوية للكلوروفيل معنويا قياسا الى طريقة الاضافة عند زراعة البذور والى معاملة الفطر الممرض بمفرده التي بلغت فيها نسبة الاصابة ودليل شدة المرض 100 و 87.50% على التتابع. ويعد تسجيل النوع *T. citrinoviride* كعامل للمكافحة الأحيائية الاول في العراق.

الكلمات المفتاحية: عوامل حياتية، مكافحة أحيائية، فطريات وقرنابيط.

The Biocontrol Potential of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma citrinoviride* in Suppression of Cauliflower Stem Canker Disease

Qays Majid Obaid Wadeja Muhsen Kuthair
Baghdad University / College of Agriculture - plant Protection
Baghdad – Iraq
E-Mail:qays777@yahoo.com

Abstract

The study aimed to evaluate the efficiency of *T. harzianum* and *T. citrinoviride* in supression cauliflower damping-off and stem canker diseases caused by *Rhizoctonia solani* Kühn.

Six isolates of *R. solani* were isolated from infected cauliflower plants collected from nursery and fields. The pathogenicity tests revealed that all the isolates were pathogenic to cabbage seeds. R3 isolate has totally inhibited the germination of Cauliflower seeds. High antagonistic activity of *T. harzianum* and *T. citrinoviride* against *R. solani* on PDA medium were reduced using dual culture technique. Results of greenhouse experiments showed that the addition of biological agents, at transplanting and at sowing then at transplanting induced significant reduction in disease incidence and disease severity index of cauliflower stem canker and increased the percentage of chlorophyll compared with the addition of the bioagents at sowing only and untreated control treatment which recorded 100% and 87.50% respectively. The recorded *T. citrinoviride* as biocontrol agent was considered the first in Iraq.

Key Words: Biological Agents; Resistance; Fungi and Cauliflower.

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

المقدمة

يعود القرنابيط (*Brassica oleracea* var. *botrytis* Cauliflower) للعائلة الصليبية (Cruciferae) وهو من محاصيل الخضر الشتوية المعروفة في العراق. ينمو القرنابيط في حالة برية في منطقة البحر الابيض المتوسط و يعتقد ان جزيرة قبرص هي الموطن الاصلي له. يعد القرنابيط ذا قيمة غذائية عالية، ويستعمل في الطبخ والمخللات والسلطة وتستخدم مخلفاته علفاً للحيوان، يحتوي كل 100 غم من الجزء الصالح للأكل على 92 غم ماء و25 سعرة حرارية و2.4 غم بروتين و4.9 غم مواد كاربوهيدراتية و72 ملغم فسفور و2.2 ملغم كالسيوم و1.1 ملغم حديد وعدد من الفيتامينات (خلف الله وآخرون، 1985). يزرع النبات لأجل الحصول على الأقراص الزهرية (Curds) وهي الجزء الذي يؤكل من النبات وهي عبارة عن البراعم الزهرية قبل تفتحها مع الحوامل الزهرية التي تكون لحمية متضخمة (مطلوب وآخرون، 1989). بلغت المساحة المزروعة بالمحصول في العراق 1550 هكتار وبإنتاج مقداره 26000 طناً لعام 2012 (FAO, 2012).

يصاب محصول القرنابيط بالعديد من الامراض التي غالباً ما تتسبب عن الفطريات و البكتريا مما يؤدي الى خسارة في الحاصل ومن اهم الامراض التي تصيب القرنابيط في العالم مرض سقوط البادرات (Damping Off) ومرض الساق السلكي (Wire Stem) وتقرح الساق (Stem Canker) المتسببة عن الفطر *Rhizoctoni solani* Kühn (Baker, 1970 و Pullaro, 2003 و Agrios, 2005 و Shabir, *et al.*, 2012).

يعد الفطر *R. solani* من الفطريات الواسعة الانتشار في العالم ويسبب امراضا لمدى واسع من العوائل ويصعب مكافحته كيميائيا بسبب قابلية بقائه لمدة طويلة مترمماً في التربة او متطفلاً اختيارياً على العوائل البديلة أو الادغال، وقدرته على انتاج اجسام حجرية (Sclerotia) مقاومة للظروف البيئية غير الملائمة (Ogoshi, 1996 و Paultiz *et al.*, 2002 و Dey *et al.*, 2005 و Agrios,2005). وذكر Wu (2003) بانه لا توجد محاصيل مقاومة للفطر *R. solani* كما انه لا توجد مبيدات فطرية فعالة للسيطرة على الامراض التي يسببها فضلا عن زيادة الوعي بمخاطر المبيدات الكيميائية الفطرية مما يؤكد الحاجة الى اتباع الطرائق الأحيائية كبديل عن طرائق المكافحة الكيميائية فضلاً عن كونها صديقة للبيئة (Khare *et al.*,2010). وقد طورت نظم حديثة في مجال المكافحة الأحيائية في السنوات الاخيرة ضد فطريات التربة الممرضة كبدائل جديدة وفعالة في مكافحتها من دون ان تحدث تلوثا للبيئة ومدة بقائها طويلة نسبياً وليس لها متبقيات ذات تأثيرات جانبية ففي العقدين الاخيرين سجلت المكافحة الأحيائية ضد الامراض ومنها الامراض المتسببة عن الفطر *Rhizoctoni* تقدماً ملحوظاً لأنها تعتمد على كفاءة استعمال المصادر الطبيعية بتفعيل نشاط الكائنات الحية المفيدة ضد الكائنات الحية الضارة واختزال كمية لقاح المسببات المستهدفة في المكافحة الأحيائية ومن تلك الاحياء الفطر *Trichoderma* (Lewis,1990 و Harman *et al.*, 2004 و Shabir *et al.*, 2012).

المواد وطرائق العمل

عزل الفطر *R. solani* من نباتات القرنابيط المصابة

جمعت عينات لشتلات القرنابيط المصابة من المشاتل و الحقول من مناطق ابو غريب و اليوسفية و اللطيفية و القناة من محافظة بغداد في اكياس من البولي اثيلين نقلت النماذج الى المختبر لاجراء التحليل المايكروبي حيث غسلت اجزاء من السيقان المصابة والتي تشتمل على المناطق السليمة القريبة من النسيج المصاب بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة

وقطعت الى قطع بطول 0.5 سم، وعقمت سطحيا بغمرها لمدة دقيقتين في محلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) ونقلت الى ماء مقطر معقم لمدة 2-3 دقيقة وغسلت جيدا ثم وضعت فوق ورق ترشيح معقم لتجفيفها ونقلت بملقط معقم الى اطباق بتري قطر 9 سم مجهز بـ 15-20 مل من الوسط الزرعي Potato DextrosrAgar (PDA) المضاف له المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم / لتر بعد تعقيم الوسط بالمؤصدة في درجة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² ولمدة 20 دقيقة بواقع 4 قطع / طبق وعشرة اطباق لكل عينة ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±1م° لمدة يومين وبعدها تم اجراء الفحص لمستعمرات الفطر النامية ونقلت قطع من اطراف الخيوط الفطرية الى اطباق جديدة حاوية على الـ PDA وحضنت الاطباق في درجة 25±1م° لمدة اربعة ايام، وشخص الفطر *R.solani* اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية المذكورة في Parmeter and Whitney (1970). نقلت مستعمرات الفطر *R. solani* النامية الى انابيب اختبار حاوية على الوسط الزرعي PDA وذلك بأخذ جزء من طرف كل مستعمرة نامية في الاطباق بأبرة معقمة ووضعها على الوسط الزرعي ثم حضنت لمدة اربعة ايام وبعدها وضعت في الثلاجة لحين اجراء بقية الاختبارات.

تحديد عدد نوى الفطر *R. solani*

حضرت مجموعة من الاطباق الزجاجية قطر 9 سم وضع في طرف كل منها شريحة زجاجية ثم اغلقت الاطباق وعقمت في فرن كهربائي تحت درجة 200 م° لمدة اربع ساعات وصب في كل طبق وسط Water Agar (WA) ترك الوسط يتصلب ولقح كل طبق بقرص قطر 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة الفطر *R. solani* بعمر خمسة ايام على الوسط PDA المعقم وضع على بعد 1 سم من الشريحة وحضنت الاطباق لمدة يومين وفق الطريقة التي ذكرها Herr (1979) في تصبيغ النوى باستعمال صبغة Aniline Blue اذ تم تحضير محلول يتكون من 1 مل من 20 Tween و 1 مل من Lactic Acid تركيز 85% في 1 لتر ماء مقطر معقم. اضيفت 6-8 قطرات من المحلول ونشرت بعناية على منطقة محددة من مستعمرة الفطر *R. solani* النامية على الشريحة الزجاجية بعد رفعها من الطبق وأضيفت قطرة واحدة من صبغة Aniline Blue تركيز 0.5% على المنطقة المعاملة ووضع فوقها غطاء الشريحة وتركت لمدة 30 دقيقة ثم فحصت تحت المجهر الضوئي وحسبت اعداد النوى في كل خلية التي ظهرت بلون الازرق وبثلاث مكررات / عزلة.

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *R. solani* باستعمال بذور اللهانة في المختبر

اختبرت المقدرة الامراضية لست عزلات من الفطر *R. solani* باتباع طريقة Butler and Bolkan (1974) وذلك بتلقيح اطباق بتري قطر 9 سم حاوية على 15-20 مل من الوسط الزرعي المكون من الآكر والماء (WA) بنسبة 2% (20 غم اكر في 1 لتر ماء مقطر) والمعقم بجهاز المؤصدة على درجة حرارة 121 م° وضغط 1.5 كغم / سم² ولمدة 15 دقيقة باقراص الفطر قطر 0.5 سم اخذت من قرب حواف مزارع عزلات الفطر المنماة على الوسط الزرعي PDA بعمر 5 ايام كل على انفراد. وضعت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±1م° وبعد 3 ايام زرعت بذور لهانة محلية معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة دقيقتين بواقع 25 بذرة لكل طبق بصورة دائرية مجاورة لحافة الطبق وبثلاثة مكررات لكل عزلة مع معاملة المقارنة من دون فطر. حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25±1 م° وبعد 7 ايام سجلت النتائج بحساب النسبة المئوية للانبات.

اجري الاختبار نفسه باستعمال بذور القرنابيط مع العزلة R3 التي احدثت نسبة انبات 0.0% والتي اعتمدت في التجارب اللاحقة.

تحضير لقاح الفطر *R. solani*

تم تحضير لقاح الفطر *R. solani* بتنمية الفطر على بذور الدخن المحلي ، اذ وضع 100 غم من البذور في دورق حجم 500 مل، اضيف له 300 مل ماء ونقعت لمدة ست ساعات وسكب الماء الفائض وعقمت بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² لمدة ساعة ولمرتين متعاقبتين يفصل بين كل مرة واخرى يومان. لقحت بذور الدخن بخمسة اقراص قطر 5 ملم من الوسط الزرعي PDA الحاوي على نموات الفطر *R. solani* (R3) بعمر 7 ايام و حضنت الدوراق في درجة حرارة 25±1 م° لمدة 10 ايام وتم تحريك الدوارق باليد كل ثلاثة ايام لضمان التهوية وتوزيع الفطر في جميع البذور (Dewan ، 1989 و Pannecoucque و Höfte، 2009).

اختبار تفاعل اصناف وهجن من القرنابيط للفطر *R. solani* للعزلة R3 تحت ظروف البيت الزجاجي

اجريت هذه التجربة في البيت الزجاجي العائد لقسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة بغداد.

زرعت بذور اصناف وهجن القرنابيط في طبقة من الستايروبور تحتوي على بتموس معقم بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² لمرتين لمدة ساعة يفصل بين كل مرة واخرى يومان. سقيت الاطباق كلما دعت الحاجة وبعد مرور شهر ونصف من الانبات نقلت البادرات الى اصص بلاستيكية سعة 1 كغم الحاوية على تربة مزيجية وبتموس بنسبة 1:3 والمعقمة مرتين بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² لمدة ساعة في كل مرة واضيف لها لقاح الفطر *R. solani* (R3) بواقع 1 غم / اصيص وخلطت جيداً مع التربة وسقيت وغلفت الاصص باكياس البولي اثلين المثقب لمدة يومين ثم زرعت البادرات في الاصص 3 بادرات / اصيص. اما بالنسبة لمعاملات المقارنة فقد نقلت البادرات الى اصص غير معاملة بالفطر والمضاف لها بذور دخن معقم فقط، وبعد مرور اسبوعين من الزراعة قلعت النباتات وحسبت النسبة المئوية للاصابة على وفق المعادلة الاتية:-

$$\% \text{ للاصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$$

وقدر دليل شدة المرض على النباتات باستعمال المدرج الذي ذكره Hall *et al.* (2009) المكون من 6 درجات (صورة 2) كما يأتي:-

0 = نبات سليم لا توجد اعراض.
1 = تلون خفيف في الساق.
2 = تقرح يحيط بـ ½ الساق.
3 = تقرح يحيط بجميع الساق.
4 = تقرح شديد يحيط بجميع الساق مع ذبول النبات.
5 = موت النبات.

وحسبت النسبة المئوية لدليل شدة المرض حسب معادلة Mckinney (1923).

عزل الفطر *Trichoderma* spp

عزل الفطر *T. citrinoviride*

اجريت تجربة للبحث عن مصادر مكافحة أحيائية في انواع مختلفة من البتموس المنتج محليا منها الفيافي، الخليج والاصيل وبتموس من مصادر اجنبية منها بتموس هولندي انتاج شركة Van Egmond وبتموس ايطالي انتاج شركة Cul Vita وقد زرعت بذور لهانة معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) في اصص بلاستيكية قطر 13 سم وسعة 1 كغم تحتوي على كمية متساوية من كل نوع من انواع البتموس في الاصص وبواقع اربعة مكررات و 10 بذور / اصيص ومن خلال متابعة نمو نباتات اللهانة النامية في تلك الاوساط لوحظت سرعة نمو نباتات اللهانة

المزروعة في كل من البتموس الهولندي والايطالي قياسا الى سرعة نمو النباتات في انواع البتموس الاخرى مما حفز على اجراء عزل من البتموس الهولندي و ذلك باخذ اجزاء صغيرة من البتموس المعبأ في اكياس مغلقة ومثقبة وذلك بفتح الكيس داخل جهاز اللامينر وزراعته في اطباق بتري حاوية على الـ PDA المضاف له المضاد الحيوي Tetracycline ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±1م° ولمدة يومين و قد تمت تنقية مستعمرات الفطر النامي في تلك الاطباق بنقل قطع من اطراف المستعمرات الفطرية الى اطباق جديدة حاوية على الـ PDA وحضنت الاطباق في درجة 25±1م° لمدة اربعة ايام. وشخصت من قبل د. هادي مهدي عبود رئيس باحثين علميين / وزارة العلوم والتكنولوجيا ويعد هذا اول تسجيل لهذا النوع في العراق.

تم نقل مستعمرات الفطر النامية الى انابيب اختبار حاوية على الوسط الزرعي PDA .

عزل الفطر *T. harzianum*

تم عزل الفطر *T. harzianum* من المبيد الأحيائي Biocont - T انتاج شركة البركة لمستلزمات الزراعة العضوية / المملكة الاردنية الهاشمية. بوضع كمية قليلة من المستحضر المتكون من ابواغ الفطر *T. harzianum* ومادة عضوية حاملة في اطباق بتري حاوية على الـ PDA المضاف له المضاد الحيوي Tetracycline وحضنت لمدة يومين بذات درجة الحرارة ونقيت مستعمرات الفطر *T. harzianum* بنقل قطع من اطراف الخيوط الفطرية الى اطباق جديدة حاوية على الـ PDA وحضنت الاطباق في درجة 25±1م° لمدة اربعة ايام. نقلت مستعمرات الفطر *T. harzianum* النامية الى انابيب اختبار حاوية على الوسط الزرعي PDA لحين استعمالها في التجارب اللاحقة.

اختبار المقدرة التضادية للفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* ضد الفطر *R. solani* على الوسط الزرعي PDA

تم اختبار المقدرة التضادية للفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* ضد عزلة الفطر الممرض *R. solani* (R3) باتباع طريقة الزرع المزدوج باستعمال اطباق بتري قطر 9 سم تحتوي على الوسط الزرعي PDA قسم كل طبق الى قسمين متساويين، لقح مركز القسم الاول من كل طبق بقرص قطر 5 ملم من مستعمرة الفطر الممرض المنمى على الوسط الزرعي PDA بعمر ثلاثة ايام ولقح القسم الاخر من الطبق بقرص بالقطر نفسه من مزارع الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* كل على حدة بواقع اربعة مكررات لكل منها ولقحت اربعة اطباق بالفطر الممرض فقط للمقارنة. حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25±1م° لمدة 6 ايام بعدها تم تقدير التضاد وفقا لسلم التقييس المعد من قبل Bell *et al.*, (1982) المكون من خمس درجات:-

درجة 1 – نمو الفطر الاحيائي يغطي مساحة الطبق بالكامل وعدم السماح للمسبب المرضي بالنمو.

درجة 2 – نمو الفطر الاحيائي يغطي ثلثي مساحة الطبق والفطر الممرض يغطي الثلث الباقي.

درجة 3 – نمو الفطر الاحيائي يغطي نصف مساحة الطبق والفطر الممرض يغطي النصف الاخر.

درجة 4 – نمو الفطر الاحيائي يغطي ثلث مساحة الطبق بينما يغطي نمو الفطر الممرض الثلثين الآخرين.

درجة 5 – يغطي الفطر الممرض الطبق باكمله وعدم السماح للفطر الأحيائي بالنمو.

ويعد الفطر الاحيائي فعالاً في التضاد عند درجة 2 أو أقل مع الفطر الممرض.

تـأثير الأحيـاء الـدقيقـة المؤثرة و الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* المضـافة بطرائق مختلفة في خفض اصـابة نباتات القرنابيط تحت ظروف البيت الزجاجي

استعملت خمسة اطباق من الستايروبور في هذه التجربة بعد تعقيمها، يحتوي الطبق الواحد على 209 حفرة، وضـع في كل طبق بتموس معامل وفق الآتي:-

أ- بتموس معقم مرتين في جهاز المؤصـدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² لمدة ساعة والفارق بين التعقيم الاول و الثاني 24 ساعة و معامل بلقاح الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* المحملان على بذور الدخن المحلي بمقدار 2 غم / كغم كلاًعلى انفراد (السامرائي، 2002) وكل على حدة وضعت في اكياس مثقبة من البولي اثيلين وترك لمدة 5 ايام، بعدها وضع البتموس المعامل بالفطر *T. harzianum* في طبق ووزع البتموس المعامل بالفطر *T. citrinoviride* بطبق آخر.

ب- بتموس معقم كما في (أ) من دون اضافة اي من العوامل الأحيائية المذكورة. زرعت الاطباق ببذور القرنابيط صنف زهرة هجين النهار بوضع بذرة واحدة في كل حفرة ووضعت الاطباق في البيت الزجاجي / قسم وقاية النبات مع مراعاة السقي كلما دعت الحاجة لمدة شهرين.

اضافة الفطر الممرض *R. solani*

1- عند زراعة البذور

نقلت شتلات القرنابيط بعمر شهرين المزروعة في بتموس معقم والمعامل بالفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* (الفقرة أ) ، الى اصص بلاستيكية سعة 1 كغم وقطر 13 سم الحاوية على خليط تربة مزيجية وبتموس بنسبة 1:3 معقم بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم / سم² لمدة ساعة و لمرتين الفارق بين المرة الاولى و الثانية 24 ساعة بواقع شتلتين / اصيص، اضيف لقاح الفطر *R. solani* محملا على بذور الدخن المحلي المعقم بعد اسبوع من نقل الشتلات (مطلوب، 2012) بنسبة 1 غم / اصيص بخلطه مع التربة (Rivera *et al*., 2004).

2- الاضافة عند نقل الشتلات

استعملت اصص بلاستيكية سعة 1 كغم حاوية على تربة مزيجية وبتموس بنسبة 1:3 (حجم / حجم) معقمة بالمؤصدة اضيف لقاح الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* كل على حدة بنسبة 2 غم / كغم تربة (السامرائي، 2002)، رفعت الشتلات بعمر شهرين برفق من طبق الستايروبور المعد في الفقرة (ب) غير المعامل بالعوامل الأحيائية المستعملة في التجربة وزرعت في الاصص بواقع شتلتين / اصيص.

3- الاضافة عند زراعة البذور و التدعيم عند الشتل

نقلت شتلات القرنابيط بعمر شهرين من الشتلات المعدة في الفقرة (أ) الى اصص بلاستيكية المضاف لها العوامل الحيوية المستعملة كل على حدة كاضافات تدعيم عند الشتل بواقع شتلتين / اصيص مع اضافة الفطر الممرض كما ذكر آنفاً، أما معاملة المقارنة مع الفطر الممرض فقد استعملت تربة معقمة مضاف اليها الفطر *R. solani* وزرعت الشتلات المأخوذة من بتموس معقم فقط المعدة في (ب)، اما بالنسبة لمعاملة المقارنة من دون فطر ممرض فقد استعملت تربة معقمة أضيف اليها بذور دخن معقم فقط و زرعت البادرات المعدة في (ب) استعملت معاملات مقارنة من دون فطر ممرض اضيف لها الفطر *T. harzianum* و *T. citrinoviride* كل على حدة زرعت بشتلات معدة في الفقرة (ب)، سقيت التجربة كلما دعت الحاجة وسجلت النتائج بعد مرور 50 يوما وذلك بحساب

نسبة الاصابة ودليل شدة المرض والنسبة المئوية للكلوروفيل وقدرت نسبة البروتين ضمن حدود الورقة الخامسة تحت القمة النامية ومعدل الوزن الجاف والطري للمجموعين الخضري والجذري وطول الساق والجذر.

ولقد اشتملت التجربة على المعاملات الاتية وباربعة مكررات لكل منها وكما يأتي:

1. الفطر *R. solani* فقط.
2. الفطر *T. harzianum* + *R. solani* عند زراعة البذور.
3. الفطر *T. harzianum* + *R. solani* عند الشتل.
4. الفطر *T. harzianum* + *R. solani* عند الزراعة والتدعيم عند الشتل.
5. الفطر *T. citrinoviride* + *R. solani* عند زراعة البذور.
6. الفطر *T. citrinoviride* + *R. solani* عند الشتل.
7. الفطر *T. citrinoviride* + *R. solani* عند الزراعة والتدعيم عند الشتل.
8. مقارنة غير ملوثة بالفطر *R. solani* استعمل فيها بذور دخن معقمة فقط.
9. الفطر *T. harzianum* فقط.
10. الفطر *T. citrinoviride* فقط.

استعمل التصميم التام التعشية CRD في التحليل الاحصائي.

قياس نسبة الكلوروفيل في النبات

تم حساب النسبة المئوية للكلوروفيل لاوراق القرنابيط المتضمنة الورقة الخامسة تحت القمة النامية باستعمال جهاز قياس الكلوروفيل SPAD 502 (شركة Minolta).

النتائج والمناقشة

عزل الفطر *R. solani* من نباتات القرنابيط المصابة

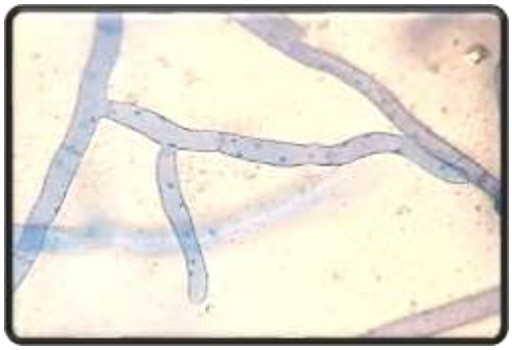
اظهرت عملية العزل من نباتات القرنابيط المصابة التي ظهرت عليها اعراض المرض وجود الفطر *Rhizoctonia solani* في جميع العينات المفحوصة وبذلك تم الحصول على ست عزلات وقد تباينت الوان مستعمرات الفطر المنماة على الوسط الزرعي PDA من اللون البني الفاتح – البني الغامق وجاءت نتائج العزل مطابقة لما ذكره Chauhan *et al.* (2000) و Hitch *et al.* (2007) و Pannecoucque *et al.* (2008) و Shabir *et al.* (2012) من ان الفطر *R. solani* هو المسبب الرئيس لمرض سقوط البادرات وتعفن الساق او الساق السلكي لبادرات ونباتات القرنابيط سواء في المشتل او الحقل. كذلك اكد Budge *et al.* (2009) عزل الفطر *R. solani* من قطع قواعد سيقان القرنابيط واشار الى ان هذا الفطر يرتبط مع نباتات *Brassica oleracea* في حقول الانتاج

وبين الفحص المجهري للفطر ان الغزل الفطري مقسم وله تفرعات كثيرة بشكل زاوية قائمة وبصورة متعامدة مع الغزل الفطري الاساسي ووجد تخصر واضح في منطقة النشوء، ووجود حواجز مستعرضة في الفروع قرب نقطة التفرع ولم يلحظ وجود الابواغ الجنسية و اللاجنسية ، كما لوحظ ايضا تكون خلايا برميلية الشكل متجمعة بشكل سلاسل في اماكن تكوين الاجسام الحجرية، وتنطبق هذه الصفات مع خواص و صفات الفطر *R. solani* التي ذكرها عدد من الباحثين (Ogoshi, 1987 و Sneh *et al.*,1996).

تصبيغ نوى الفطر *R. solani*

اظهرت نتائج الفحص المجهري ان جميع العزلات تحتوي خلاياها على اكثر من ثلاث انوية للخلية الواحدة وللمكررات الثلاثة اذ تراوح عدد الانوية بين 4 – 8 في كل خلية (صورة 1) وهذا يدل على ان العزلات من نوع Multinucleate وهذا يؤكد ان هذه العزلات هي للفطر *R. solani*، ولم يلاحظ وجود اقل من ثلاث انوية في الخلايا الفطرية. وجد Pannecoucque *et al.* (2008) ان 60 من اصل 62 عزلة للفطر *Rhizoctonia* spp عزلت من حقول القرنابيط وسببت تلك العزلات مرض الساق السلكي في حقول القرنابيط، كانت خلاياها متعددة الانوية وشخصت على انها *R. solani*.

وذكر Pannecoucque and Höfte (2009) ان من بين 8 عزلات للفطر *Rhizoctonia* كان 7 منها *R. solani* متعددة النوى multinucleate تعود الى 7 مجاميع اندماج سايتوبلازمي وعزلة واحدة *Rhizoctonia* sp ثنائية النواة Binucleate واظهرت تلك العزلات مستويات مختلفة من الشراسة باصابتها للقرنابيط.



صورة (1) تعدد النوى في خلايا الفطر *R. Solani*

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *R. solani* باستعمال بذور اللهانة في المختبر

احدثت جميع عزلات الفطر *R. solani* الستة المختبرة خفضا معنويا بنسبة انبات بذور اللهانة (جدول 1) فقد حققت العزلات R2، R3، R5 و R6 تأثيرا واضحا في خفض النسب المئوية للانبات الى الصفر قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها 97.33% واحدثت العزلتان R1 و R4 نسب انبات بلغت 32.00 و 42.67 % على التتابع، ولدى اختبار تأثير العزلة R3 في انبات بذور القرنابيط وجد انها منعت انبات البذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة الانبات فيها 96.00% ، اذ ان من المعروف ان بذور العائلة الصليبية بشكل عام حساسة لتأثير المسببات المرضية واستعملت بذور اللهانة في الكشف عن المقدرة الامراضية للمسببات المرضية المختلفة (Bolkan and Butler, 1974 والجبوري، 2002 وحسون، 2005 والعيساوي، 2010 ومطلوب، 2012 وسعيد، 2014) .

ويعزى تأثير الفطر *R. solani* في انبات بذور اللهانة والقرنابيط الى ان للفطر *R. solani* القابلية على انتاج مواد ايضية ذات تأثيرات سمية مثبطة لانبات البذور (Jain and Thaplial,1980) وانتاجه الانزيمات المحللة للبكتين والسليلوز التي تسبب تحلل جدران الخلايا مما يؤدي الى تعفن البذور وتحللها (Bateman and Lumsden, 1965 و Murphy و Dillard, 1987 و *et al.*, 1984 و Pannecoucque and Höfte, 2009).

جدول (1) الكشف عن عزلات الفطر *R. solani* الممرضة باستعمال بذور اللهانه

رمز العزلة	النسبة المئوية لإنبات بذور اللهانة
R1	32.00
R2	0.00
R3	0.00
R4	42.67
R5	0.00
R6	0.00
المقارنة	97.33
L. S. D عند 0.05	**5.07**

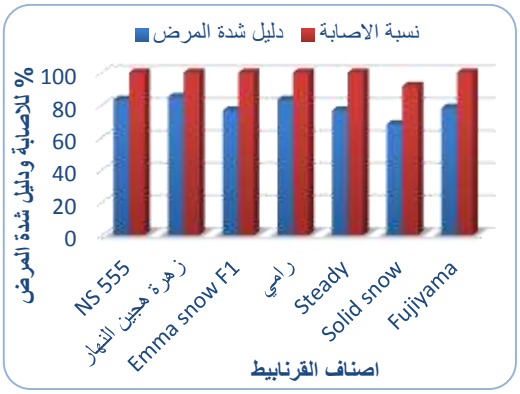
كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات

اختبار تفاعل اصناف وهجن من القرنابيط للفطر *R. solani* العزلة R3 تحت ظروف البيت الزجاجي

بينت النتائج (شكل 1) ان جميع الاصناف المستعملة في التجربة اظهرت تفاعل عالي تجاه الاصابة بالفطر *R. solani* إذ بلغت النسبة المئوية للاصابة 100% في جميع الاصناف عدا الصنف Solid Snow فقد بلغت نسبة الاصابة فيه 91.66% وكان الصنف زهرة هجين النهار اكثرها تأثراً اذ بلغ دليل شدة المرض 85.0% وبفروق معنوية عن الصنف Solid Snow الذي بلغ 68.3% ولا توجد فروق معنوية عن باقي الاصناف Fujiyama، Steady، رامي، Emma Snow F1 و NS 555 التي بلغ الدليل المرضي فيها 78.3، 76.7، 83.3، 76.7 و 83.3% على التتابع اذ تركزت الاصابة في اسفل الساق وتراوحت من تلون بني خفيف الى تقرح شديد يطوق الساق مع ذبول النبات وبالتالي موت النباتات.

L.S.D لنسبة الاصابة = 9.27

L.S.D لدليل شدة المرض = 9.63



شكل (1) دليل شدة المرض ونسبة الاصابة بالفطر *R. solani* لعدة اصناف وهجن من القرنابيط

تتفق نتائج هذه التجربة مع ما توصل اليه Hall *et al.* (2009) في اختبار تأثير الفطر *R. solani* في نسبة اصابة ودليل شدة مرض احد عشرة صنفا من القرنابيط فقد اظهرت جميع تلك الاصناف حساسية للفطر الممرض وبنسب اصابة عالية على تلك الاصناف بلغت اقصاها 100% وتفاوتت شدة اصابة تلك الاصناف بالمرض، ومع ما توصل اليه Pannecoucque *et al.* (2008) من ان بعض عزلات الفطر *R. solani* احدثت تقرحات شديدة على السيقان وغالب النباتات حصل لها ذبول تام بعد 10 ايام من التلقيح بالفطر الممرض.

اختبار المقدرة التضادية للفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* ضد الفطر *R. solani* في الوسط الزرعي PDA

اظهرت النتائج وجود مقدرة تضادية لعاملي المكافحة الاحيائية *T. harzianum* و *T. citrinoviride* ضد الفطر الممرض *R. solani* في ظروف المختبر بعد سبعة ايام من التحضين بدرجة حرارة 25±1 م° إذ بلغت القدرة التضادية لكل من العاملين الأحيائيين الدرجة 2 حسب السلم الذي

وضعه Bell وآخرون (1982) وهذا يتفق مع ما وجده Seema and Devaki (2012) ان الفطر *T. harzianum* احدث تثبيطا للفطر *R. solani* تحت ظروف المختبر بنسبة 67%. طبقاً لما ذكره Papavizas and Lumsden (1982) و Devaki *et al.* (1992) ان آلية السيطرة على الفطر الممرض عن طريق انواع الفطر *Trichoderma* spp يعود الى التضاد، انتاج الانزيمات المحللة لجدران خلايا الممرض، التنافس و التطفل، اذ يحدث تطفل الفطر *T. harzianum* على الفطر الممرض *R. solani* من خلال الالتفاف حول خيوطه وتكوين ممصات داخل هايفاته وامتصاص السايتوبلازم (Seema and Devaki, 2012)، ويعود التضاد الى انتاج انواع الفطر *Trichoderma* spp عدد من المضادات الحيوية وانتاج الانزيمات المحللة لجدران خلايا الممرض (Dennis and Webster, 1971 و Devaki *et al.*, 1992) وربما يعود التضاد الى انتاج الفطر *Trichoderma* spp مركبات ايض ثانوية طيارة ولقد اثبت ذلك حديثا (Seema and Devaki, 2012)، واحدث الفطر *T. harzianum* تثبيطاً لنمو مايسيليوم الفطر *R. solani* المسبب لمرض سقوط بادرات القرنابيط بنسبة 85.5% (Shabir *et al.*, 2012).

تأثير الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* في الاصابة بالفطر *R. solani* في القرنابيط تحت ظروف البيت الزجاجي

حققت معاملة التربة بكل من الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* عند الشتل والاضافة عند الزراعة والتدعيم عند الشتل خفضا معنويا في نسبة الاصابة بالفطر *R. solani* اذ بلغت 37.5 و 25.0% لكل منها على التتابع قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده التي بلغت نسبة الاصابة فيها 100% (جدول 2) واحدثت جميع المعاملات خفضا معنويا في دليل شدة مرض نباتات القرنابيط فقد حققت اضافة الفطر *T. harzianum* عند زراعة البذور والشتل والاضافة عند الزراعة والتدعيم عند الشتل 47.5 و 12.5 و 7.5% على التتابع وباضافة الفطر *T. citrinoviride* بلغت 47.6 و 15 و 10% على التتابع قياسا الى معاملة الفطر الممرض بمفرده التي بلغ دليل شدة المرض فيها 87.50% وجاءت هذه النتائج متشابهة لما وجده Roy *et al.* (1998) و Faruk *et al.* (2002) و Islam and Faruk (2008) و Shabir *et al.* (2012) ومطلوب (2012). ولم تختلف نسبة الاصابة في طريقة اضافة *T. harzianum* و *T. citrinoviride* عند زراعة البذور التي بلغت 75% لكليهما معنويا عن نسبة المرض في معاملة المقارنة 100% ويرجع سبب خفض كفاءة الفطرين الأحيائيين بهذه الطريقة من الاضافة في خفض نسبة الاصابة ودليل شدة المرض ربما الى حدوث خفض تركيز لقاحيهما في الوسط الزراعي بسبب الغسل المستمر نتيجة السقي اليومي وتخفيف نواتج الايض الثانوية كالانزيمات والمضادات الحياتية مما اخفضت قدرتها على التطفل والتضاد.

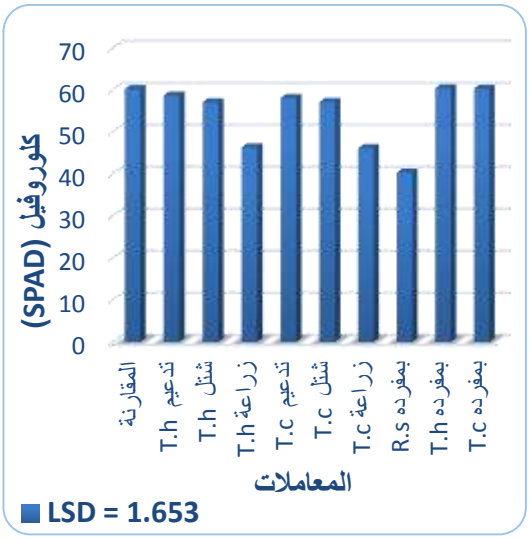
وربما تعود كفاءة طريقة اضافة الفطر *Trichoderma* بطريقة اضافته عند الزراعة والتدعيم عند الشتل تلتها طريقة الاضافة عند الشتل في خفض نسبة الاصابة ودليل شدة المرض الى زيادة طاقته اللقاحية واستيطانه منطقة الجذور وبذلك تزداد كفاءته في حماية الجذور من مهاجمتها من قبل المسببات المرضية (Hadar *et al.*,1979 و الخفاجي، 1985).

جدول (2) تأثير الفطرين *T. harzianum* و *T. citrinoviride* في نسبة الاصابة ودليل شدة المرض المتسببة عن الفطر *R. solani* على نباتات القرنابيط تحت ظروف البيت الزجاجي

المعاملات	نسبة الاصابة (%)	دليل شدة المرض (%)
المقارنة	0.0	0.0
T.h تدعيم + *R.s*	25.0	7.5
T.h شتل + *R.s*	37.5	12.5
T.h زراعة + *R.s*	75.0	47.5
T.c تدعيم + *R.s*	25.0	10.0
T.c شتل + *R.s*	37.5	15.0
T.c زراعة + *R.s*	75.0	47.5
R.s بمفرده	100.0	87.5
T.h بمفرده	0.0	0.0
T.c بمفرده	0.0	0.0
LSD عند 0.05	30.92	10.13

كل رقم يمثل معدل اربعة مكررات
Trichoderma harzianum = T.h
Trichoderma citrinoviride = T.c
Rhizoctonia solani = R.s

اظهرت النتائج (شكل 2) ان جميع طرائق اضافة الفطرين *T. harziaunm* و *T. citrinoviride* عند الشتل والتدعيم عند الشتل والاضافة عند الزراعة بوجود الفطر الممرض حققت زيادة محتوى النبات من الكلوروفيل تتراوح بين SPAD 58.65-46.12 وباختلاف معنوي واضح عن معاملة الفطر الممرض بمفرده كان فيها محتوى الكلوروفيل 40.28 وارتفع محتوى الاوراق من الكلوروفيل عند اضافة *T. harziaunm* و *T. citrinoviride* من دون الفطر الممرض اذ بلغ 60.35 و 60.25 على التتابع ولم تختلف بذلك عن نسبة الكلوروفيل في معاملة المقارنة (من دون اي اضافات) التي بلغت فيها نسبة الكلوروفيل 60.15.



شكل (2) تأثير الفطرين *T. harziaunm* و *T. citrinoviride* في نسبة الكلوروفيل في القرنابيط تحت ظروف البيت الزجاجي

Trichoderma harzianum = T.h
Trichoderma citrinoviride = T.c
Rhizoctonia solani = R.s

ربما يعزى زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل بوجود فطري المكافحة الحيوية الى تحسين تغذية النباتات اذ ان هناك سلالات لهذا الفطر تنتج عدد كبير من المواد الكيميائية تعمل على زيادة جاهزية العناصر الغذائية وامتصاصها من قبل النبات (Altomare *et al.*, 1999) وجاءت هذه النتائج مطابقة لما وجده مطلوب (2012) زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل في النباتات النامية في تربة مضاف لها الفطر *T. harziaunm*.

المصادر

الجبوري ، حرية حسين شهاب، (2002)، تأثير استخدام معيق النمو كلتارCultar وبعض المستخلصات النباتية على إصابة نبات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

الخفاجي، هادي مهدي، (1985)، دراسة بايلوجية ووقائية للفطر *Pythim aphanidermatum* (Edson) Fitez المسبب المرضي لسقوط بادرات الخيار في البيوت الزجاجية والبلاستيكية، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

السامرائي، فالح حسن سعيد، (2002)، تأثير عزلات من الفطر *Trichoderma* spp في انبات بذور ونمو شتلات النارنج (*Citrus aurantium*) Sour orange، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

العيساوي، جاسم محمود عبد فراس، (2010)، المكافحة المتكاملة لمرض سقوط البادرات على الباذنجان المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kühn، رسالة ماجستير،كلية الزراعة ، جامعة بغداد.

حسون، أبراهيم خليل، (2005) ، المكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* kuhn ، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

خلف الله، عبد العزيز ومحمد عبد اللطيف الشال ومحمد عبد القادر وهانى محمود بدر، (1985)، الخضروات أساسيات وإنتاج، كلية الزراعة، جامعة الاسكندرية.

سعيد، رحمن عيسى، (2014)، التحري عن الفطريات المرافقة لبذور الزينيا وتقييم فعالية بعض المعاملات في حيويتها وانتظام انباتها، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

مطلوب، ;، (2012)، تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا وتقويم فعالية بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مقاومتها، اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.

مطلوب، عدنان ناصر وعز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول، (1989)، انتاج الخضروات ،الجزء الاول،الطبعة الثانية المنقحة، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جمهورية العراق 680 ص.

Agrios, G.N., (2005), Plant Pathology, 5th ed., Academic Press, 952.

Altomare, C.; Norvell, W. A.; Björkman, T. and Harman G. C., (1999) Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant- growth Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied Environmental and Microbiology 65, 2926-2933.

Baker, K.F., (1970) Types of *Rhizoctonia* disease. In: Parmeter JR. ed. *Rhizoctonia solani*. Biology and Pathology. Berkeley. CA. USA. University of California Press. 125-48.

Bateman, D. F. and Lumsden, R. D., (1965) Relation of Calcium Content and Nature of the Pectic Substances in Bean Hypocotyls of Different Ages to Susceptibility to an Isolate of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 55, 734-738.

Bell, D. K.; Well, H. D. and Markham G. R., (1982) Invitro Antagonism of *Trichoderma spp*. Against Six Fungi. Plant Pathogens. Phytopathology. 72, 379-382.

Bolkan, H. H. and Butler, E. E., (1974) Studies on Heterokaryosis Virulence of *Rhizoctonia solani* Phytopathology. 64, 513 – 522.

Budge, G.E.; Shaw, M.W. and Lambourne, C., (2009) Characterization and Origin of Infection of *Rhizoctonia solani* Associated with *Brassica oleracea* Crops in the UK. Plant Pathology. 58, 1059– 70.

Chauhan, R. S.; Maheshwari, S. K. and Gandhi, S. K., (2000) Effect of Nitrogen, Phosphorus and Farm Yard Manure Levels on Stem Rot of Cauliflower Caused by *Rhizoctonia solani*. Agriculture Science Digest 20, 36–38.

Dennis, C. and Webster, J., (1971) Antagonist Properties of Species Group of *Trichoderma* II. Production of Volatile Antibiotics. Transactions of British Mycological Society. 57, 41 – 48.

Devaki, N.S. ; Bhat, S.S.; Bhat, S.G. and Manjunath, K.R., (1992) Antagonistic Activities of *Trichoderma harzianum* Against *Pythium aphanidermatum* and *Pythium myriotylum* on Tobacco. Journal of Phytopathology. 136, 82-87.

Dewan, M. M., (1989) Identify and Frequency of Occurrence of Fungi in Root of Wheat and Ryegrass and their Effect on Take – all and Hostgrowth. Ph.D. Thesis. Univ. West Australia, 210.

Dey, T. K., (2005) Effect of Soil Solarization in Controlling Damping-off Disease of True Potato Seedlings. Bangladesh Journal of Plant Pathology. 21, 93.

Dillard, H.R., (1987) Characterization of Isolates of *Rhizoctonia solani* from Lima Bean Grown in New York State. Phytopathology. 77,748-751.

Elad, Y., (2000) Biological Control of Foliar Pathogens by Means of *Trichoderma harzianum* and Potential Modes of Action. Crop Protection. 19, 709-714.

FAO, (2012) FAO STAT Agricultural Data. Agricultural Aroduction Crop. Primary Available at http://Faostat.Fao.org/faostat.

Faruk, M. I.; Rahman, M. L. and Bari, M. A., (2002) Management of Seedling Disease of Cabbage Through *Trichoderma harzianum* Amendment in Seedbed. Bangladesh Journal of Plant Pathology. 18, 49-53.

Hadar, Y.; Chet I. and Henis, Y., (1979) Biological Control of *Rhizoctonia solani* Damping-off with Wheat Bran Culture of *Trichoderma harzianum*. Journal of Phytopathology. 69, 64-68.

Hall, B.; Barlow T.; Rawnsley B.; Hitch C. and Deland L., (2009) Varietal Resistance of Cauliflower Cultivars to Soil Borne Diseases: *Rhizoctonia solani* and *Leptosphaeria maculans*. 5th Australian Soilborne Diseases Symposium. Thredbo NSW. 61-62.

Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I. and Lorito, M., (2004) *Trichoderma* Species – opportunic. Avirulent Plant Symbiosis. Natural Rev. Microbiol. 2, 43-56.

Herr, L. J., (1979) Practical Nuclear Staining Procedures for *Rhizoctonia* – like Fungi. Phytopathology. 69, 958–961.

Hitch, C.J.; Hall, B. H. and Wicks, T. J., (2007) Brassica Stem Canker – the Role of *Rhizoctonia*. in "Proceedings of the 16th Biennial APPS Conference, Adelaide", 34.

Islam, M. T. and Faruq, A. N., (2008) Effect of Selected Soil Amendments on Seed Germination, Seedling Growth and Control of Damping-off of Chilli Seedlings. Journal of Sher-e-bangla Agricultural University. 2, 12-16.

Jain, R. K. and Thapliyal, P. N., (1980) Toxic Metabolites from *Rhizoctonia solani* Kuhn: Production and Possible Role in Pathogenesis. Indian J. Expt. Biol. 18, 316-318.

Khare, A.; Singh B. K. and Upadhyay R. S., (2010) Biological Control of *pythium aphanidermatum* Causing Damping off of Mustard by Mutants of *Trichoderma viride* 1433. Journal of Agricultural Technology. 6, 231-243.

Lewis J.A.; Barksdale, T.H., and Papavizas, G.C., (1990) Greenhouse and Field Studies on the Biological Control of Tomato Fruit Rot Caused by *Rhizoctonia solani*. Crop Prot 9, 8-14.

Mckinney, H.H., (1923) Biological Control of Nematode Pests by Natural Enemies. Ann. Rev. Pytopathol. 18,415-440.

Murphy, J.B.; McFreeman, J. and Good, M. J., (1984) The Effect of Genotype and Ethephone on *Rhizoctonia* Soil Rot of Processing Tomatoes. Hort. Science. 19, 676-677.

Ogoshi, A., (1987) Ecology and Pathogenicity of Anastomosis and Intraspecific Groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Ann. Rev. Phytopathogy. 25, 125-143.

Ogoshi, A., (1996) Introduction – the Genus *Rhizoctonia*. In: Sneh B, Jabaji-Hare S, Neate S, Dijst G, eds. Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Dordrecht, the Netherlands. Kluwer Academic Publishers. 1–9.

Pannecoucque, J. and Höfte M., (2009) Interactions Between Cauliflower and *Rhizoctonia* Anastomosis Groups with Different Levels of Aggressiveness. BMC Plant Biology. 9, 95.

Pannecoucque, J.; Van Beneden, S. and Höfte, M., (2008) Characterization and Pathogenicity of *Rhizoctonia* Isolates Associated with Cauliflower in Belgium. Plant Pathol. 57, 737-746.

Papavizas, G.C. and Lumsden, R.D., (1982) Improved Medium for Isolation of *Trichoderma* spp. from Natural Soil. Plant Disease. 66, 1019 – 1020.

Parmeter, J. R. and Whitney, H. S., (1970) Taxonomy and Nomencleature of the Imperfect Stage In: *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology. (ed.) J. R. Parmeter. University of California Barkely. Los Angeless. 7 – 19.

Paulitz, T. C.; Smiley, R. W. and Cook, R. J., (2002) Insight into the Prevalence and Management of Soil Borne Cereal Pathogens Under Direct Seeding in the Pacific Northwest, U.S.A. Canadian Journal of Plant Pathology. 24, 416-428.

Pullaro, T.C., (2003) Increase in Populations of *Rhizoctonia solani* and Wire Stem of Collard with Velvet Bean Cover Crop Mulch. Plant Disease. 87, 719-725.

Rivera, M.C.; Wright, E.R.; Lopez, M.V.; Garda, D. and Barrague, M.Y., (2004) Promoting of Growth and Control of Damping-off *Rhizoctonia solani* of Green House Tomatoes Amended with Vermicompost. Phyton. 4, 229-235.

Roy, S. K.; Das, B. C. and Bora, L. C., (1998) Non-pesticidal Management of Damping off of Cabbage and Cauliflower Caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. Journal of Agricultural Sciences Society. 11, 127-130.

Seema, M. and Devaki, N.S., (2012) In Vitro Evaluation of Biocontrol Agents Against *Rhizoctonia solani*. International Journal of Agricultural Technology. 8, 233-240.

Shabir, S.; Lawrence, R.; Kumar, E. J. and Badri, Z., (2012) Comparative Efficacy of *Trichoderma viride*, *T. harzianum* and Carbendazim Against Damping-off Disease of Cauliflower Caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn JBiopest. 5, 23-27.

Sneh, B.; Jabaji-hare, S.; Neate, S. and Dijst, G., (1996) *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. Netherlands.

Wu, J., (2003) Transformation of *Rhizoctonia solani*. Ph.D. Thesis, Murdoch Univ., Perth - Wesrern Australia. 142.