مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد (11) العدد (1) لسنة 2006

تقييم كفاءة بعض المعاملات الكيمياوية والإحيائية في حماية درنات البطاطا من الإصابة بالفطر *Fusarium solani*

سامي عبد الرضا الجميلي نبيل سليم سعيد تويج هدى جميل الخلخالي

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الكوفة

الخلاصة :

هدفت الدراسة الى ايجاد وسيلة فعالة لحماية حاصل البطاطا *Solanum tuberosum* من الإصابة بمرض التعفن الجاف (Dry rot) الذي يسببه الفطر *Fusarium solani* في ظروف الخزن الطبيعية من خلال اختبار كفاءة بعض العوامل الكيمياوية (مبيد الروفرال , مادة اليوريا التجارية , كلوريد الصوديوم) والإحيائية (لقاح البكتريا CHAO *fluorescens Pseudomonas*) .

وقد اثبت مبيد الروفرال كفاءة عالية في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *F. solani* اذ بلغت 100% في الوسط الزرعي بالتركيزين(0.1 و0.2)% وجاء لقاح البكتريا CHAO *P. fluorescens*في المرتبة الثانية من حيث تثبيط الفطر 88% في حين كان لمادة اليوريا فعلا تثبيطيا" متوسطا" بلغ 51% عند التركيز 1% , كما أوضحت النتائج ان كلوريد الصوديوم كان اقل المعاملات كفاءة في تثبيط الفطر *F. solani* اذ بلغ معدل التثبيط 37.2% عند التركيز 0.1%.

ومن خلال التجربة الخزنية فقد اوضحت النتائج ان للجروح اهمية كبيرة في زيادة اصابة الدرنات بالفطر اذ بلغت النسبة المئوية للاصابة في الدرنات المجرحة 33.8% , في حين بلغت في الدرنات غير المجرحة 3.1% , واثرت الجروح ايضا على معدل وزن الدرنات اذ بلغ معدل وزن الدرنات غير المجرحة 234 غم وانخفض في الدرنات المجرحة الى 202.2 غم .

وقد اظهرت المعاملات الكيمياوية والاحيائية كفاءة في خفض نسبة اصابة الدرنات بالفطر *F. solani* وكانت أفضل المعاملات معاملة مبيد الروفرال اذ خفض نسبة الاصابة الى 1.1% في حين تساوت معاملتا اليوريا Urea والبكتريا CHAO *P. fluorescens* في معدل نسبة الخفض اذ بلغت (15.5 و 15) % على التوالي . اما تأثيرالمعاملات في الوزن فقد أظهرت مادة اليوريا كفاءة في الحفاظ على وزن الدرنات اذ بلغ 241.6 غم وجاء مبيد الروفرال في المرتبة الثانية 233.4 غم .

المقدمة :

مرض العفن الجاف (Dryrot) يصيب العديد من النباتات ومنها النبات الاقتصادي البطاطا والذي يسببه الفطر *F. solani* . ويصيب هذا الفطر درنات البطاطا عن طريق الجروح او الثقوب التي تحدثها الحشرات مثل فراشة درنات البطاطا (عبد الحق واخرون , 1999) .

وينتج الفطر فضلا عن التلف الذي يسببه لمحصول البطاطا مركبات ايضية ثانوية ذات تاثيرات سمية على الانظمة الحية في الانسان والحيوان وهذه المعاملات السامة تسمى (Trichothecense) التي تتميز بكونها مركبات عديمة اللون بلورية , صلبة في الغالب وقد تمكن الباحثون من تحديد مواصفاتها باستعمال تقنيات الفحص الطيفي (ابراهيم والجبوري , 1998) .

وللحد من اصابة البطاطا بالفطر *F. solani* والتلوث بسموم (Trichothecense) تم استعمال وسائل وطرق متعددة لخزن البطاطا بظروف تمنع حدوث وتطورالاصابة بالفطر داخل المخزن والتلوث بسمومه , منها استعمال بعض المواد الكيمياوية كالمبيدات والمواد الحافظة وكذلك الطرق البايولوجية والمتمثلة باستعمال كائنات حية مضادة للفطر المعرض او رواشحها (Doyle واخرون , 1982) .

ونظرا للصعوبات التي تواجه القطر في توفير مستلزمات الخزن الجيد اهدفت هذه الدراسة ايجاد بديل عن المخازن المبردة لحفظ درنات البطاطا المخصصة للآستهلاك البشري او المستعملة كتقاوي في الزراعة من الاصابة بالفطر في *F. solani* والتلوث بسمومه ولتحقيق هذا الهدف تم دراسة المحاور الاتية :

1. تحديد كفاءة بعض العوامل الكيمياوية (اليوريا Urea والروفرال Rovralو كلوريد الصوديوم Sodium chloride في تثبيط نمو الفطر الممرض *F.solani* في الوسط الزرعي.
2. اختبار الكفاءة التثبيطية لسلالة البكتريا CHAO *P. fluorescens* للفطر *F.solani* .
3. تقييم كفاءة العوامل الكيمياوية والاحيائية الواردة في الفقرتين 1-2 في حماية درنات البطاطا من الاصابة بالفطر *F.solani* في ظروف الخزن الطبيعية .

المواد وطرائق العمل :

عزل وتشخيص الفطر *F.solani* من درنات البطاطا :

تم عزل الفطر من درنات بطاطا ظهرت عليها اعراض الإصابة بالفطر*F.solani* جلبت من الاسواق المحلية (صنف دايمونت) اذ قطعت الدرنة الى عدة اجزاء ثم اخذ الجزء المصاب وقطع قطعا" صغيرة طولها 0.5 سم ،عقمت بهايبوكلورات الصوديوم تركيز5% لمدة دقيقة واحدة بعدها غسلت بماء معقم ثم نشفت بأوراق ترشيح وزرعت في اطباق زجاجية حاوية على وسط Potato Dextrose Agar (P.D.A.)معقم وضع فيه 25 ملغم / لتر مضاد حيوي (Chloramphenicol) وبواقع خمس قطع / طبق , وحضنت الإطباق في درجة حرارة 27 ±1 م ° لمدة خمسة أيام وبعد انتهاء مدة الحضن تم تنقية عزلة الفطر بأخذ قرص من كل طبق وزرعه في طبق يحوي على .P.D.A وكررت العملية لعدت مرات (العنسي ,1999).

تم تشخيص العزلة بالاعتماد على الصفات التصنيفية التي ذكرها Nelson وآخرون (1983) .

تحضير لقاح سلالة البكتريا *P. fluorescens* CHAO :

نميت البكتريا في وسط Potato Dextrose Broth (P.D.B.) وذلك بعد تعقيمه في جهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة بحرارة 121 م˚ وضغط 1 جو بتلقيح كل دورق بخمس مستعمرات من البكتريا وحضنت في درجة حرارة 27 ±1 م˚ لمدة 48 ساعة ثم حفظت في الثلاجة في درجة حرارة 4 م˚ مع تجديد اللقاح كل سبعة ايام (حميد ، 2001) .

اختبار كفاءة بعض العوامل الكيمياوية في تثبيط نمو الفطر *F. solani* :

أ- المبيد الكيمياوي روفرال (Rovral) :

حضر وسط غذائي .P.D.A في ثلاثة دوارق سعة كل منها 250 مل وعقمت في جهاز التعقيم البخاري Autoclave في درجة حرارة 121 م˚ وضغط 1 جو ولمدة 20 دقيقة وبعد التعقيم وانخفاض درجة الحرارة الى ما قبل التصلب وضع في الدوارق أولا المضاد الاحيائي Chloramphenicol بتركيز 25 ملغم / لتر , ثم وضعت تراكيز المبيد(1 و2)غم / لتر من المستحضر التجاري للدورق الأول والثاني على التوالي وترك الدورق الثالث بدون وإضافة المبيد بوصفة معاملة سيطرة , ثم رجت الدوارق الحاوية على الوسط الزرعي المضاف إليه المبيد الكيمياوي Rovral بعدها صب كل وسط حاوٍ على تركيز المبيد في ثلاثة اطباق زجاجية معقمة قطر كل منها 9 سم وكذلك معاملة السيطرة بواقع ثلاثة مكررات .

لقح مركز الاطباق عند تصلب الوسط الزرعي بأقراص الفطر الممرض قطر كل منها 5 ملم ماخوذة من مستعمرة الفطر الممرض بعمر اسبوع . حضنت الاطباق الملقحة في درجة حرارة 27 ±1 م˚ وسجلت النتائج بعد مرور سبعة ايام ثم حسب مقدار التثبيط لنمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين وحسب مقدار التثبيط وفق معادلة Abbott ، (1925) الواردة في كتاب المبيدات (شعبان والملاح , 1993).

$$\text{Inhibition percentage} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

R_1 : معدل النمو القطري للفطر في معاملة المقارنة .

R_2 : معدل النمو القطري للفطر في الاطباق الحاوية المبيد .

ب- مادة اليوريا (Urea) :

حضر الوسط الزرعي .P.D.A في اربعة دوارق سعة كل منها 250 مل , عقمت في جهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة 121 م° وضغط 1 جو , وبعد التعقيم تركت لتبرد وقبل تصلب الوسط وضع فيها المضاد الحيوي(Chloramphenicol) بتركيز 25 ملغم / لتر الى الدوارق الاربعة ثم أضيفت الى ثلاثة منها مادة اليوريا بالتراكيز(1 , 5 و 10)غم /لتر على التتابع وترك الدورق الرابع بكونه معاملة مقارنة . ثم صبت محتويات الدوارق في اطباق بتري معقمة بواقع ثلاثة اطباق لكل دورق , وبعد تصلب الوسط لقحت الاطباق بأقراص الفطر *F.solani* قطر كل منها 5 ملم مأخوذة من مستعمرة الفطر الممرض بعمر أسبوع و بواقع قرص واحد في منتصف كل طبق , وبعد مرور سبعة ايام تم حساب مقدار التثبيط لنمو الفطر في هذه المعاملة وفق معادلة Abbott ، (1925) وبالطريقة نفسها الواردة في الفقرة السابقة .

ج- كلوريد الصوديوم (Nacl) Sodium chloride :

حضر الوسط الزرعي .P.D.A في خمسة دوراق سعة كل منها 250 ملم , عقمت في جهاز المؤصدة وفي الظروف المذكورة أنفا , وبعد التعقيم تركت لتبرد , وقبل تصلب الوسط وضع فيها المضاد الحيوي(Chloramphenicol) بتركيز 25 ملغم /لتر الى الدوارق الخمسة ثم أضيفت الى اربعة منها كلوريد الصوديوم Nacl بالتراكيز(1 , 5 , 10 و 15)غم / لتر على التتابع وترك الدورق الخامس بكونه معاملة مقارنة , صبت محتويات الدوارق في اطباق بتري معقمة بواقع ثلاثة اطباق لكل دورق وبعد تصلب الوسط لقحت الأطباق بأقراص *F.solani* قطر كل منها 5 ملم مأخوذة من مستعمرة الفطر الممرض بعمر اسبوع . بواقع قرص واحد في منتصف الطبق .

وبعد مرور سبعة أيام تم حساب مقدار التثبيط لنمو الفطر وفق معادلة Abbott ، (1925)الواردة في الفقرة السابقة.

اختبار الكفاءة التضادية لسلالة البكتريا *P. fluorescens* CHAO في تثبيط نمو الفطر *F. solani* :

لقح وسط .P.D.A بـ 0.1 مل من سلالة بكتريا *P.fluorescens* CHAO بعمر 48 ساعة بطريقة النشر بواسطة Spreader بصورة متجانسة بمعدل ثلاثة مكررات , وحضنت الاطباق في درجة حرارة 27 ±1 م° لمدة 48 ساعة بعدها لقحت الاطباق بقرص 5 ملم من الفطر *F.solani* النامية بعمر سبعة ايام في مركز الطبق وتم تلقيح ثلاثة اطباق اخرى من .P.D.A بالفطر *F.solani* فقط بوصفه معاملة مقارنة , حضنت الاطباق كافة في درجة حرارة 27 ±1 م°, وحسب مقدار نمو الفطر باخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية بعد مرور سبعة ايام ومقدار التثبيط وفق معادلة Abbott، (1925) المذكورة في الفقرة السابقة.

التجربة الخزنية Storage Experiment :

نفذت التجربة خلال المدة المحصورة بين 2003/12/14 – 2004/3/14 في مختبرات قسم علوم الحياة – كلية العلوم / جامعة الكوفة . تم تهيأة كمية مناسبة من درنات البطاطا صنف داييمونت Diamont من محصول العروة الخريفية للعام 2003 , وعقمت درنات البطاطا سطحيا

بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 5% خمس دقائق ثم تم إزالة أثار التعقيم باستعمال الماء المقطر وطبقت عليه المعاملات الآتية :

تأثير المعاملات الكيمياوية والإحيائية في اصابة الدرنات بالفطر *F.solani* ووزن الدرنات :

أ- المعاملة بالمبيد الكيمياوي روفرال Rovral Treatment :

*** المجموعة الاولى :** ضمت 6 مكررات كل مكرر يتمثل بوزن مقداره 250 غم. عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 5% لمدة دقيقة واحدة بعدها غسلت بالماء المقطر ثم نشفت بوساطة ورق الترشيح (Whatman) ,ثم جرحت الدرنات بسكين معقم بالحرارة بصورة عشوائية بعد ذلك تم تغطيس الدرنات في عالق مبيد الروفرال والمحضر من إذابة 1 غم من المبيد في 1 لتر ماء معقم لمدة خمس دقائق وبعد المعاملة مباشرة لوثت بلقاح فطر *F.solani* بوساطة مرشة يدوية معقمة , وضعت المكررات الستة في عبوات ورقية وغلقت بإحكام ثم خزنت في مكان نظيف وفي درجة حرارة المختبر .

*** المجموعة الثانية :** تم تطبيق الشيء نفسه في الفقرة أولا باستثناء عدم تجريح الدرنات

ب- المعاملة بمادة اليوريا Urea Treatment :

أخذت الكمية السابقة من درنات البطاطا وقسمت مجموعتين وأُجري لها ما جاء في الفقرة أ باستثناء معاملة الدرنات بمادة اليوريا بتركيز 10غم/لتر بدلا من مبيد الروفرال.

ج- المعاملة بمادة كلوريد الصوديوم Sodium chloride treatment :

عوملت نفس الكمية المذكورة انفا من درنات البطاطا وقسمت مجموعتين واجرى لها ما جاء في الفقرة أ باستثناء معاملة الدرنات بمادة كلوريد الصوديوم Nacl بتركيز1 غم/ لتر بدلا من مبيد الروفرال .

المعاملة بالبكتريا *P. fluorescens* CHAO :

اخذت 3 كيلوغرامات من الدرنات وقسمت مجموعتين :

***المجموعة الأولى :**ضمت هذه المجموعة 6 مكررات بواقع 250 غرام لكل مكرر,عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 5% لمدة خمس دقائق , نشفت بورق الترشيح (Whatman) ثم جرحت بسكين معقم بالحرارة بصورة عشوائية بعدها لوثت بلقاح البكتريا *P.fluorescens* CHAO بتركيز (8×10^8 خلية /مل) تلاها تلقيح الدرنات بعالق ابواغ الفطر *F.solani* (1.5×10^9 بوغ/مل)ثم وضعت في أكياس ورقية محكمة الغلق وخزنت بظروف طبيعية وفي درجة حرارة المختبر.

*** المجموعة الثانية :** تم تطبيق الشيء نفسه في الفقرة أولا باستثناء عدم تجريح الدرنات.

معاملة السيطرة Control Treatment :

أ- اخذت 3 كيلوغرامات من الدرنات وقسمت مجموعتين وطبق عليها ما جاء في الفقرة المذكورة انفا ومعاملتها بلقاح الفطر *F.solani*.
ب- اخذت نفس الكميةالسابقة من درنات البطاطا وعقمت سطحيا ولم تعامل باي مادة ثم خزنت بنفس نوعية العبوة المذكورة اعلاه . خزنت العبوات فيالمعاملات السابقة في ظروف المختبر ولمدة ثلاثة اشهر وبعد نهاية مدة الخزن تم اجراء تقييم كفاءةالمعاملات في حماية درنة البطاطا من الاصابة بالفطر *F.solani* من خلال حساب النسبة المئوية للاصابة بالفطر*F.solani* ومعدل وزن الدرنات.

التحليل الاحصائي :

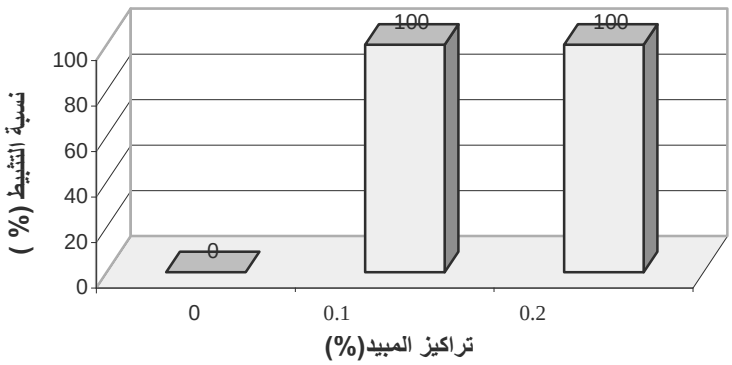
حللت جميع التجارب بحسب نموذج التصميم العشوائي الكامل التعشية Completely Randomized Design (C.R.D.) وتم مقارنة المتوسطات بحسب طريقة اقل فرق معنوي بين متوسطين.L.S.D وفي مستوى احتمال 0.05 (الراوي وخلف الله , 1980).

النتائج والمناقشة:

اختبار كفاءة بعض العوامل الكيمياوية في تثبيط نمو الفطر *F. solani* في الوسط الزرعي .P.D.A :

أ- المبيد الكيمياوي روفرال (Rovral) :

اظهرت النتائج المبينة في الشكل (1) كفاءة المبيد في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *F.solani* اذ بلغ معدل قطر المستعمرات صفر في التركيزين (0.1 و0.2)% ونسبة التثبيط 100% واختلف بفروق عالية المعنوية عن معاملة المقارنة .



شكل (1): تاثير تراكيز المبيد الكيمياوي Rovral في النمو الشعاعي للفطر *F.solani* في الوسط الزرعي .P.D.A لمدة اسبوع بدرجة حرارة 27 ±1 م°

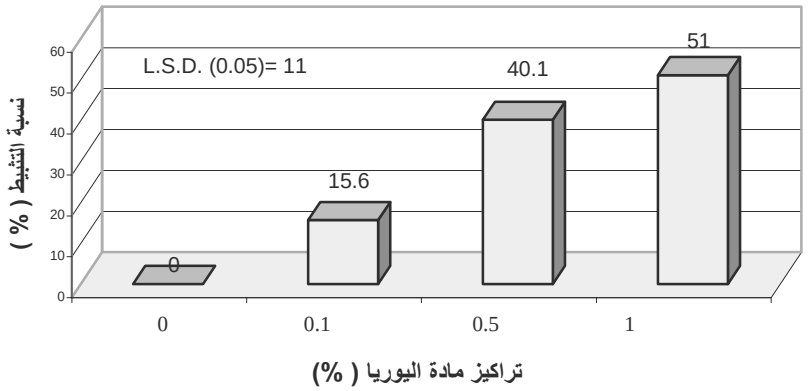
وقد يعود السبب في القابلية التثبيطية للمبيد Rovral الى امتلاكه المادة الفعالة الكينونات التي تمتاز بقدرتها على قتل الفطريات اما عن طريق ارتباطها بالمعاملات الاحيائية الحاوية مجاميع الثايول (SH) او مجموعة الامين (NH_2) في الخلية الفطرية ، كما قد تؤدي الى الإخلال بنظام النقل الالكتروني ومنع عملية الفسفرة بما يؤدي الى موت الفطر في النهاية . (شعبان والملاح ، 1993) .

ب- مادة اليوريا (Urea) :

بينت نتائج التجربة ان مادة اليوريا لها القدرة على تثبيط النمو الشعاعي للفطر *F. solani* ولكن بنسب اختلفت باختلاف التراكيز المستعملة ، فالتركيز 1% اظهر اعلى نسبة تثبيط اذ بلغت 51% (القطر 2.78 سم) في الوقت الذي بلغ مقدار التثبيط 40.1% في التركيز 0.5% (القطر4.8 سم) في حين انخفضت نسبة التثبيط الى 15.6% عند التركيز 0.1% (القطر 3.38 سم) (شكل 2) .

وقد يعود السبب في قدرة اليوريا على تثبيط الفطر الممرض *F.solani* في الوسط الزرعي .P.D.A بنسب مختلفة الى ان مادة اليوريا عند تحللها تنتج مركبات ذات سمية مثل مادة الامونيا التي ثبتت سميتها للفطريات (Rustum ، 1997) .

وهذه النتيجة تماثل مع ما اشار اليه ابو شبع (2003) في قدرة اليوريا على تثبيط الفطريات *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* بنسبة 100% في الوسط الزرعي .P.D.A وعند التركيز 8% .



شكل (2): تأثير تراكيز مختلفة من مادة اليوريا على النمو الشعاعي للفطر *F.solani* في الوسط الزرعي .P.D.A لمدة اسبوع بدرجة حرارة 27 ±1 م°

ج-كلوريد الصوديوم Sodium chloride (Nacl) :

أوضحت النتائج ان كلوريد الصوديوم بتركيز 0.1% كان الأكثر تأثيرا في نمو الفطر اذ بلغ معدل القطر 3.6سم ومعدل التثبيط 37.2% اما التركيز 1.5% فكان القطر 4.5 سم ومعدل التثبيط 4.8% في حين اثرت بقية التراكيز ايجابيا في زيادة معدل أقطار النمو اذ ارتفعت معدلات قطر المستعمرات الى (8.4 و8.6)سم في التركيزين (0.5 و1)% على التوالي .

ومن هذه النتائج يظهر ان التراكيز المتطرفة تكون ذات تاثيرات سلبية على النمو في حين التراكيز المتوسطة كانت مفيدة في زيادة معدل نمو الفطر . وقد يعود سبب التباين الحاصل في نتائج التراكيز ووفق ما تشير اليه الدراسات بان معظم الخلايا المايكروبية يكون الضغط الازموزي داخلها (Intracellular Tonicity) يعادل تلك القوة المتولدة من محلول ملحي تركيزه 0.85 – 0.9 % ولذلك المحاليل الملحية للتخفيفات البكتيرية تحضر بهذا التركيز لكي لا يحدث تغير داخل الخلية (المصلح ، 1990) .

وهذا يفسر النتيجة الحاصلة مع فطر *F.solani* فالتركيزين (0.5 و1)% من كلوريد الصوديوم لم تؤثرا على النمو الطبيعي للفطر في الوسط الزرعي . في حين التراكيز المتطرفة 0.1% و1.5% اثرت سلبا على نمو الفطر وسببت انخفاضا ملوحظا في معدل قطر المستعمرة . ويمكن تفسير هذه النتيجة بان الخلية الفطرية للفطر *F.solani* عند تنميتها في التركيز 1.5% الذي يعتبر اعلى من محتوى تركيز الخلية من مادة كلوريد الصوديوم مما سبب خروج الماء من داخل الخلية الى خارجها عن طريق الاغشية شبه النضاحة في الجدار الخلوي بهدف معادلة التركيز متسبب في حدوث ظاهرة الانكماش (Plasmolized) ثم تجف (dehydration) .

اما عند نمو الفطر في التركيز الواطيء 0.1% تكون الحالة عكسية اذ تكون الخلايا في وسط ذو تركيز اقل من تركيزها داخل الخلية الفطرية وبهذا ينفذ الماء من خارج الخلية الى داخلها حتى تمتلىء ويتكون ضغط اوزموزي عالٍ داخل الخلية (Osmoticpressure) وتسمى هذه الظاهرة (البلزمة)التي تؤدي الى انفجار الخليةً او فقدان الغشاء الخلوي فعاليته التناضحية . وعندما تحدث ظاهرة الانكماش والجفاف في الخلايا تثبيط فيها العمليات الايضية جزئيا او كليا . وبذلك يكون اساس تاثير ارتفاع الضغط الازموزي يشبه تأثير عمليتي التجفيف والتجميد من حيث عدم توفر الرطوبة الحرة اللازمة في داخل الخلايا للقيام باعمالها الايضية (الاحيائية) جدول (1) (داود وآخرون، 1991) .

جدول (1): تأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم في تثبيط نمو الفطر *F.solani* لمدة اسبوع بدرجة حرارة 27 ±1 م°

التراكيز (%)	معدل قطر المستعمرة(سم)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
0	5.75	0
0.1	3.6	37.2
0.5	8.4	-47.4
1	8.6	-53
1.5	4.5	4.8

L.S.D(0.05)=20

اختبار الكفاءة التضادية لسلالة البكتريا CHAO *P. fluorescens* في تثبيط نمو الفطر *F.solani* :

أظهرت نتائج الاختبار قدرة البكتريا العالية على تثبيط النمو الشعاعي للفطر *F.solani* في الوسط الزرعي .P.D.A اذ بلغ معدل التثبيط 88% ومعدل قطر الفطر 0.5 سم ، في حين بلغ في معاملة المقارنة (5.75)سم (جدول 2) .

جدول(2): كفاءة البكتريا CHAO *P. fluorescens* في تثبيط نمو الفطر *F.solani* في الوسط الزرعي .P.D.A

المعاملة	الكفاءة التضادية % ضد الفطر	معدل قطر مستعمرة الفطر (سم)

CHAO *P.fluorescens*	88	0.5
مقارنة	-	5.75

L.S.D(0.05)=0.895

وتعود الكفاءة التثبيطية العالية للبكتريا *P.fluorescens* CHAO الى فعاليتها العالية في التضاد مع الاحياء المجهرية من خلال انتاجها مضادات حيوية متعددة تثبط المسببات المرضية البكترية والفطرية مثل (Pyrrolintrin، Pyoluterin، HCN). كما تتميز هذه البكتريا بقدرتها العالية على التنافس على العناصر الغذائية المهمة مثل الكاربون وهذه الميزة تعد من الميكانيكيات المهمة في عملية التضاد المايكروبي ، اذ تقوم البكتريا بالتنافس على الكاربون واستغلاله كليا وبذلك تمنعه عن الاحياء المجهرية الاخرى مسببة ضعفها وفضلا عن ذلك فان لهذه البكتريا القدرة على انتاج الـ Siderophore Fluorescent (Pseudopectin) وهو مركب قابل للانتشار وذو قابلية عالية على الارتباط مع الحديد (يكون مركب مخلبي شديد الارتباط بالحديد (Ion – Chelating – Siderophores) مما يعمل على اختزال شديد لايونات الحديد (Fe^{3+}) الذائبة فيقلل من جاهزيته للاحياء الدقيقة التي تحتاج للنمو والتطور (حميد ،2001) .

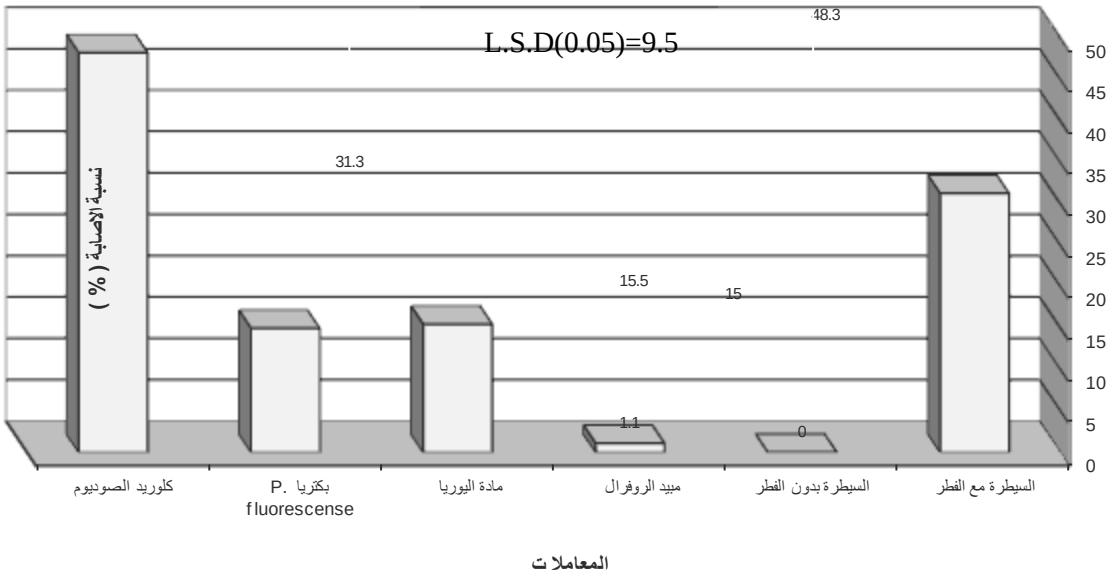
وتتفق نتيجة الاختبار مع ما توصلت اليه حميد (2001) من امتلاك سلالة *P.fluorescens* CHAO قدرة تضادية عالية للفطر *F.oxysporum* اذ سبب العزلة تثبيطا تاما لنمو الفطر بلغ 100% .

التجربة الخزنية Storage Experiment :

تأثير المعاملات الكيمياوية والإحيائية في إصابة الدرنات بالفطر *F.solani* ووزن الدرنات :

أ- النسبة المئوية للإصابة :

اظهرت جميع المعاملات الكيمياوية والاحيائية باستثناء معاملة كلوريد الصوديوم تأثيرا" معنويا" في خفض معدلات نسبة الإصابة بالفطر *F.solani* مقارنة بمعاملة السيطرة بعد انتهاء مدة التخزين والممتدة ثلاثة اشهر . وكانت معاملة درنات البطاطا بمبيد الروفرال (Rovral) هي الأكفأ اذ خفضت نسبة الإصابة الى 1.1% . في حين ارتفعت الى 31.3% في معاملة السيطرة (مع الفطر)كما تساوت معاملتا اليوريا Urea والبكتريا *P.fluorescens* CHAO في معدل نسبة الخفض اذ بلغت (15.5و15)% على التوالي . اما معاملة كلوريد الصوديوم فكان تأثيرها ايجابيا" في زيادة معدل الإصابة اذ بلغت 48.3% شكل (3) .



شكل(3): تأثير المعاملات الكيمياوية والإحيائية في نسبة اصابة الدرنات بالفطر *F.solani* والمخزنة بأكياس ورقية لمدة ثلاثة أشهر

وتعود كفاءة مبيد الروفرال في تثبيط الفطر *F.solani* عند استعماله بتركيز 1 غم / لتر الى احتواء المبيد للمادة الفعالة الكينونات (Quinones) التي تعمل على قتل الفطر الممرض عن طريق ارتباطها بالمعاملات الإحيائية الحاوية على مجاميع الثايول (SH) او المجاميع الامينية في الخلية الفطرية ، وقد تؤدي ايضا الى الإخلال بنظام سلسلة نقل الالكترونات ومنع عملية الفسفرة في الخلية الفطرية (شعبان والملاح ، 1993) .

وما يعزز ذلك كفاءة المبيد في تثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض تثبيطا تاماً في التجربة المختبرية وجاءت نتائج هذه الدراسة مماثلة لدراسة قام بها الكعبي (2004) اذ اظهر مبيد Blitinat كفاءة في خفض شدة الإصابة بمرض اللفحة المبكرة على الطماطة الذي يسببه الفطر *Alternaria solani* بسبب احتواء المبيد على المادة الفعالة (Quinones) في حين تساوت معدلات نسبة الاصابة في معاملة مادة اليوريا والبكتريا CHAO *P.fluorescens*. وهذا يدل على كفاءة مادة اليوريا وقدرتها على حماية الدرنات من الإصابة بمرض التعفن الجاف (Dryrot) بسبب طبيعة تركيبها الكيمياوي وامكانية تحللها الى مركبات سامة للفطريات مثل الامونيا (Rustum ، 1997) .

وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره مجيد (1997) من ان معاملة الاعلاف باليوريا يؤدي الى تثبيط نمو الفطريات الملوثة ويحد من الاصابة بها وبالخصوص *A.flavus* و*A.niger* .

اما كفاءة البكتريا CHAO *P.fluorescens* في تثبيط الفطر *F.solani* فتعود الى قدرة البكتريا على انتاج الكثير من المعاملات المضادة لنمو الاحياء المجهرية المختلفة والتي تسمى Antifungal compounds ولا سيما Pyrrolnitrin وHcN وSalicylic acid و2,4-diacetylphloroglucinol و Pyoluteorin فضلا عن انتاجها مركبات مرتبطة بالحديد Siderophores مثل Pseudobactin وPyoverdin الامر الذي يؤدي الى نقص عنصر الحديد المهم لنمو الفطر *Fasarium spp* في الوسط الزرعي ومن ثم اعاقة نمو المايسيليوم وتثبيط تكوين الابواغ وانباتها (Velazhahan وآخرون ، 1999) .

وتظهر النتائج ايضا ان معاملة كلوريد الصوديوم اقل كفاءة في خفض معدلات الاصابة بالفطر *F.solani* مقارنة لبقيةالمعاملات اذ بلغت نسبة الاصابة 48.3% عند التركيز 1 غم / لتر . وقد يعود سبب الخفض في معدل نسبة الاصابة الى ان تركيز كلوريد الصوديوم داخل الفطر الذي يعتقد انه اعلى من التركيز المستعمل في معاملة الدرنات سبب حدوث ظاهرة البلزمة للفطر مما ادى الى خفض قدرته المرضية وبهذا يثبط نمو الفطر تدريجيا بسبب ان الماء ينفذ من خارج الخلية الى داخلها حتى تمتلئ ويتكون ضغط ازموزي عالٍ قد يؤدي الى انفجار الخلية وموتها وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره Wadeواخرون (2000) في ان كلوريد الصوديوم له القدرة على كبت الامراض المتسببة عن بعض انواع جنس الفيوزاريوم *Fusarium spp* . في بعض انواع المحاصيل التي تمتلك القدرة على تحمل هذا المركب ، كما في نبات بخور مريم *Cyclamen*

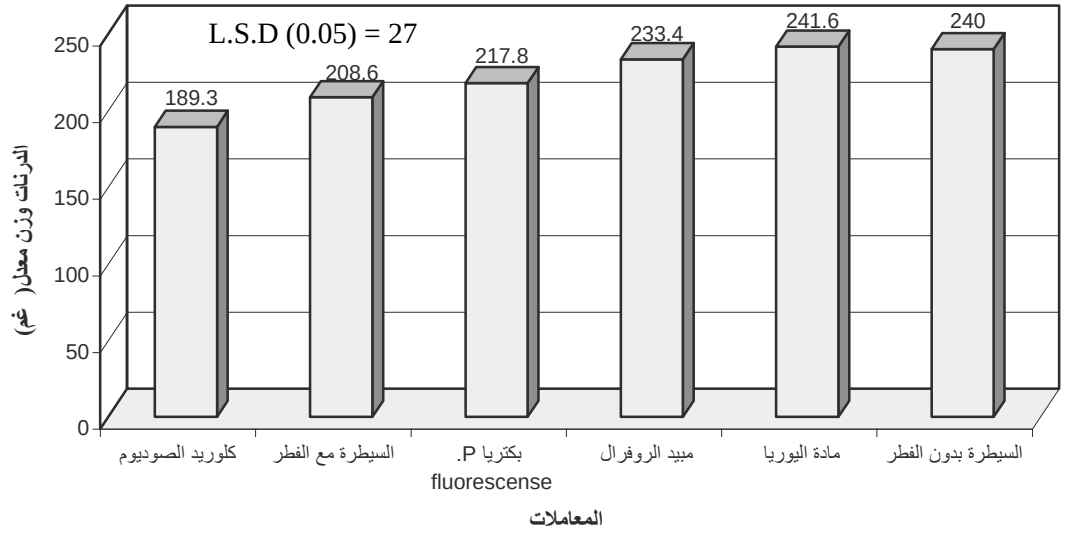
المزروع في تربة ملوثة بالفطر *F.oxysporum* . فعند المعاملة بمادة كلوريد الصوديوم قلت نسبة الموت الحاصلة في النبات وحصلت زيادة في الوزن الطري ومساحة اوراق النبات .

ب- وزن الدرنات :

يوضح الشكل ،(4) انخفاض معدل وزن الدرنات في كافة المعاملات الكيمياوية والإحيائية قياسا بمعاملة المقارنة (بدون الفطر) التي حافظت على وزنها الطبيعي 250 غم وتفسير ذلك يعود الى تأثير الفطر *F.solani* في خفض حجم ووزن الدرنة نتيجة إصابتها بالتعفن واستهلاك الفطر لمكونات الدرنات وكذلك ينتج عن تحلل خلايا الدرنة نتيجة الإصابة وفقدانها لكميات كبيرة من الرطوبة (Smith ، 1977).

كما بينت النتائج وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات المستعملة فكانت معاملة اليوريا أفضل المعاملات في المحافظة على وزن الدرنة اذ بلغ معدل الوزن241.6غم فضلا عن زيادة معدل الإنبات التي لم تختلف عن معاملة الروفرال في نسبة انخفاض وزن الدرنات اذ بلغ معدل الوزن 233.4غم في حين أظهرت المعاملات الأخرى انخفاضا" ملحوظا" في حجم الدرنات ووزنها وكانت معاملة كلوريد الصوديوم الأكثر تأثيرا على وزن الدرنة اذ بلغ معدل وزن الدرنات 189.3 غم وبفارق معنوي عن المعاملتين السابقتين (مبيد الروفرال ومادة اليوريا) في حين لم تختلف معنويا عن معاملة السيطرة (معاملة الفطر فقط) اذ بلغ معدل الوزن 208.6 غم .

كما اختلفت معنويا عن معاملة البكتريا *P.fluorescens* CHAO التي سببت انخفاض في حجم ووزن الدرنات ولكن بدرجة اقل من معاملة كلوريد الصوديوم اذ بلغ معدل وزن الدرنات المعاملة بالبكتريا 217.8 غم . وقد يعود سبب الاختلاف في نسبة انخفاض وزن الدرنات بين المعاملات المستعملة الى كفاءة كل معاملة وقدرتها على تثبيط الفطر الممرض *F.solani* وكما هو موضح في الفقرة السابقة (نسبة الاصابة) فكلما كلما زادت نسبة تثبيط الفطر انخفض مقدار التعفن في الدرنات وقلت نسبة الانخفاض في وزن الدرنة.

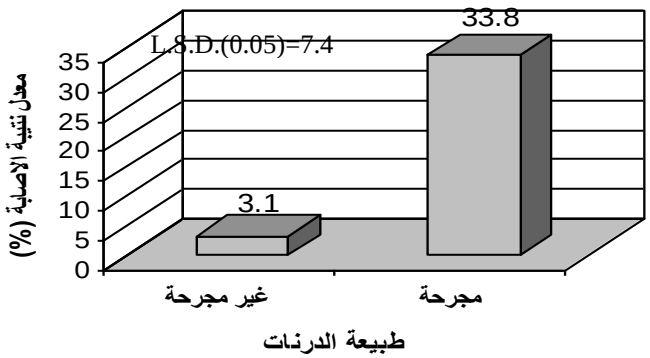


شكل(4) : تأثير المعاملات الكيمياوية والإحيائية في معدل وزن الدرنات بعد مرور ثلاثة اشهر من الخزن

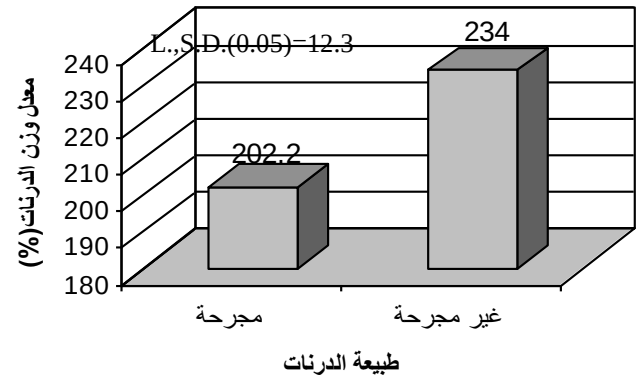
تأثير الجروح في الدرنات في معدلات نسب الإصابة والوزن :

يبين الشكل (5)ان للجروح اثرا كبيرا في زيادة معدلات نسب الإصابة اذ بلغت 33.8% . في حين لم تتجاوز في الدرنات غير المتضررة (غير المجرحة) 3.1% وهذا الفرق المعنوي الكبير بين النتيجتين يؤكد ان وجود الجروح على الدرنات تساعد على دخول ابواغ الفطر الى اعماق الجرح مما يوفر فرصة لحدوث المرض (Dry rot) للدرنات . في حين يجد الفطر صعوبة في اختراق الدرنات غير المجرحة لعدم امتلاكه الاليات معينة تساعده على احداث الإصابة وهذا يتفق مع ما ذكره Charles ، (1994) الذين ذكروا ان الرضوض والخدوش في الدرنات تزيد في فرصة اصابتها بالتعفن الجاف اثناء الحصاد او في المخازن .

واظهرت النتائج ايضا ان للجروح تأثيرا في خفض معدلات وزن الدرنات كما هو موضح في الشكل (6) اذ بلغ معدل وزن الدرنات المجرحة 202.4 غم في حين كان معدل وزن الدرنات غير المجرحة 234 غم وهذا يدل على وجود فرق معنوي كبير بين النتيجتين كما يدل على ان وجود الجروح في الدرنات تزيد في فرصة الإصابة بالفطر *F.solani* ومن ثم زيادة كمية التعفن الحاصلة في الدرنات مما يسبب انخفاضا في حجم ووزن الدرنات وهذا يتفق مع ما توصل اليه Smith (1977) اذ ذكر انه عند اصابة الدرنات بالتعفن يقل حجم ووزن الدرنة .



شكل (5): تأثير الجروح في الدرنات في النسبة المئوية للإصابة بالفطر *F.solani* بعد مرورلمدة ثلاثة أشهر من الخزن



شكل (6) : تأثير الإصابة بالفطر *F.solani* على معدل وزن الدرنات بعد مرور ثلاثة اشهر من الخزن

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد (11) العدد (1) لسنة 2006

Evaluation of the efficiency of some chemical and biological treatments on the protection of potato tubers from the infection by *Fusarium solani* fungus

Sami Abd Al-rutha Al-jumaeely Nabil Salim Saaid Tuwaij Huda Jameel Al-khlkhaly

Biology Department / College of Science / Kufa University

Abstract:

This study aimed to creating an effective means to protect potato tubers *Solanum tuberosum* from disease infection Dry Rot caused by the fungus *Fusarium solani* in natural circumstances storage through experimenting the efficiency of some chemical treatment (Rovral , Urea and Sodium chloride) and biological treatment (vaccine bacteria *Pseudomonas fluorescens* CHAO).

Rovral Fungicid proved high efficiency in inhibiting the radial growth of fungus *F. solani* at rate 100% in Agriculture media of both concentrations (0.1&0.2)% and stated vaccine bacteria *P. fluorescens* CHAO in the second order regarding the inhibition of the fungus 88%.whereas the urea showed medial effect in inhibition of which was 51% at the concentration of 1% . Results also cleared that Sodium chloride was the least treatment efficiency in inhibition the fungus *F. solani* which was 37.2% at 0.1%.

The results of the storage experiment had cleared that the wounds has a great importance in increasing tubercle infection by fungus the percentage of the infection in tubercle wound reached 33.8% while in tubercle that are not wound was 3.1% and the wound effect on the weight of tubercle which was 234gm in tubercle that are not wound but decreased in the wound tubercle to 202.2 gm. The chemical and biological treatments showed efficiency in reducing the percentage of tubercle infection with fungus *F. solani*. Rovral treatment that's the best treatment in reducing the percentage to 1.1% while equality treatment urea and bacteria *P. fluorescens* CHAO in reducing the percentage to 15.5 % successively while the treatment effect on the urea weight showed efficiency in diaper of tubercle weight which was 241.6 gm and stated Rovral in second order 233.4gm .

المصادر:

ابراهيم , اسماعيل خليل وكركز محمد ثلج الجبوري . 1998 . السموم الفطرية . مركز اباء للابحاث الزراعية . 343 صفحة .

ابو شبع , رائد علي حسين . 2003 . دور التاثير السمي للافلاتوكسينات التي يفرزها *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* على بعض انسجة الفار الابيض وامكانية حماية حاصل الذرة الصفراء من الاصابة بهما . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة الكوفة .

الراوي , خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله . 1980 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . مطبعة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر .جامعة الموصل . 488 صفحة .

العنسي ، عادل عبد الغني لطف . 1999 . المقاومة المتكاملة لمرض الذبول الفيوزاريومي في الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (SaCC) snyder and Hansen رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة البصرة .

الكعبي , عقيل نزال . 2004 . تطور ومكافحة مرض اللفحة المبكرة على الطماطة المتسبب عن الفطر *Alternaria solani* (Ellis &Martin)Jones & Grout . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة . 71 صفحة .

المصلح , رشيد محجوب . 1990 . الاحياء المجهرية في الاغذية , الطبعة الثانية . مطابع التعليم العالي في الموصل . 554 صفحة .

حميد , سميرة كاظم . 2001 . تقنية مستحدثة في انتاج مبيد حيوي من لقاح سلالة البكنريا *Pseudomonas fluorescens* CHAO . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة الكوفة . 66 صفحة .

داود , خلف صوفي , اليس كريكود , رشيد محجوب مصلح , طالب كاظم المفرجي , ضحى سعد صالح , مها رؤوف السعد , نظام كاظم الحيدري , هدى صالح مهدي. 1991. علم الاحياء المجهرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة الموصل.796 صفحة.

شعبان , عواد ونزار مصطفى الملاح . 1993 . المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . 512 صفحة .

عبد الحق , منير زكي , ناجي جورج حنا , علي السيد توفيق وصفوت عزمي دوس . 1999 . زراعة وانتاج البطاطس . وزارة الزراعة واستصلاح الاراضي . مطابع مركز الدعم الاعلامي للتنمية دكرنس .دقهلية . 83 صفحة .

مجيد , مجيد علي . 1997 . دراسة تأثير اليوريا على الفطر *Alternaria solani* والافلاتوكسين B_1 في البلوكات العلفية . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد . 89 صفحة .

Abbott , W.S . 1925 . A method of computing the effectiveness of an insecticides . J. EC. Ent . 18 : 265-267

Charles . 1994 . Manual of vegetable disease . 427 – 435 .

Doyle , M . P ., Applebaum , R . S ., Brackett , R . E and Marth , E . H. 1982 . Physical , chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities . J . of food protect . 45 (10) : 964 – 971 .

Nelson , P . E ., T . A . Toussoun , and W . F . O . Marasas . 1983 . *Fusarium* species , anllustrated manual for identification . The Pennsylvania state university press , University Park

Rustum , y . S . Ismail . 1997 . Aflatoxin in food and feed. Occurance , Iegistlation anactivation by physical methods . Food chemistry 59 : 57 – 67

Smith , O . 1977 . Potatoes . Production , storing , processing . (potatoes Diseases) . The AVI publishing company , INC . Westport , conneticut . USA, p 776.

Velazhahan , R., R . Samiyppan and P . Vidhyasekaran . 1999 . Relationship between antagonistics activities of *Pseudomonas fluorescens* isolated against *Rhizoctonia solani* and their production of lytic enzymes , J . of plant disease and protection . 106 (3) : 244 – 250

Wade . H . Elmer , R . J . Mcgovern , David . M . Geiser and B.K. Harbaugh . 2000 . Biology , epidemiology and integrated management of diseases caused by *fusarium* in potted ornamentals , University of Florida , p 14 **.**