المكافحة الاحيائية والكيميائية للفطر *Fusarium solani* المسبب لموت بادرات وتعفن جذور الطماطة باستخدام البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والمبيد الفطري بنليت

بسام يحيى إبراهيم
قسم وقاية النبات/كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

أظهرت نتائج استخدام البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والمبيد الكيميائي بنليت وتداخلهما فعالية عالية في مكافحة مرض موت بادرات وتعفن جذور الطماطة المتسبب عن الفطرMart *Fusarium solani* أظهرت البكتريا *Ps.aeruginosa* قدرة تضادية عالية ضد الفطر *F.solani* تمثلت في كبح نمو غزله الفطري بنسبة١٠٠ %وإنبات ابواغه بنسبة وصلت إلى ٤٩.٥٣ % .وفي الوقت الذي لم يسبب المبيد بنليت أي تاثيراً سمياً للبكتريا *Ps.aeruginosa* إلا أنه أحدث كبحا فعالا لنمو الفطر *F.solani* إذ بلغت نسبة التثبيط ١٠٠ % عند تركيز ١٥٠ ملغم/ لتر من المادة الفعالة للمبيد . أحدثت معاملة التداخل بين البكتريا *Ps.aeruginosa* والمبيد بنليت فعالية عالية في كبح إصابة نباتات الطماطة بالفطر *F.solani*فضـ عن زيادة معنوية في معايير نمو النبات

المقدمة

يعد الفطر *Fusarium solani* واحدا من أهم مسببات أمراض موت البادرات وتعفن الجذور انتشارا (Gray وآخرون ،١٩٩٩و Hoefnagels وLinderman ،١٩٩٩) ونظرا للخسائر الكبيرة التي يسببها الفطر فقد تنوعت وتعددت طرق مكافحته ولعل من أهم تلك الطرق المستخدمة في السنوات الأخيرة هي المكافحة الاحيائية (Abada،١٩٩٤و Beigh واخرون،١٩٩٨) حيث استخدمت أنواع مختلفة من البكتريا التابعة للجنس *Pseudomonas* بسبب قابليتها على تثبيط فطريات التربةالممرضة للنبات من جهة وتحفيزها للدفاعات الذاتية للمقاومة من جهة أخرى (Duijff واخرون،١٩٨٧ ،Meyer وآخرون ، ١٩٩٩ وNautiyal وآخرون،٢٠٠٢) من خـ ل إفرازها لمجموعة كبيرة من المواد ذات التأثير المثبط لأحياء التربة المجهرية والمحدثة للمقاومة والتي منها diacetylphloroglucinol -4 ammonia, butyrolactones kanosamine, Oligomycin A, Oomycin A, phenazine-1-rboxylic acid , viscosinamide, pyoluterin, pyrrolnitrin , Salicylic acid) Smithو Burns،١٩٩٦و Mogilaiah واخرون ١٩٩٩) ويعد النوع *Ps.aeruginosa* من الأنواع المستخدمة في هذا المجال ، حيث استخدمت لمعاملة بذورالرقي والفلفل للوقاية من الإصابة بالفطريات *Fusarium .Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani F.solani.* oxysporum (Perveenوآخرون،١٩٩٨)ولوقاية بذور الفاصوليا من الإصابة بالفطر *F.solani* (Meyer وآخرون،١٩٩٩). ويستخدم المبيد بنليت بشكل واسع في مكافحة الفطر *F.solani* في أنواع مختلفة من المحاصيل للسيطرة على أمراض موت البادرات وتعفن الجذور (طه والزرري ،١٩٨٨ ومحمد،٢٠٠٢)

ويهدف البحث إلى تقييم كفاءة استخدام البكتريا*Ps. aeruginosa* والمبيد بنليت في مكافحة الفطر *F.solani* المسبب لتعفن بذور وموت بادرات نبات الطماطة .

مواد وطرق البحث

العزل وتعريف الممرض: أجري العزل من بادرات طماطة مصابة تم جمعها من منطقة الرشيدية في محافظة نينوى على وسط مستخلص البطاطا والدكستروز والآجار PDA الحاوي على المضاد الحيوي سلفات ستبرتومايسيين بمعدل٥٠ ملغم /لتر حيث حضرت أجزاء صغيرة بأبعاد لا تتجاوز٠.٥سم من منطقة السويقة الجنينة للنباتات المصابة وعقمت سطحيا باستخدام محلول يحتوي على١% هايبوكلورايت الصوديوم ثم زرعت الأجزاء في أطباق بتري معقمة تحتوي على الوسط الغذائيPDA

وحضنت في ٢٥-٢٧م° وبعد نمو المستعمرات نقيت ثم عرفت باستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Booth ، ١٩٧٠) واختبرت قدرة الفطرالمعزول الامراضية بتطبيق فرضيات كوخ.

: تم استخدام عزلة من *F.solani* تجاه الفطر *Ps.aeruginosa*اختبار القدرة التضادية للبكتريا والتي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة /كلية العلوم سبق وان تم *Ps.aeruginosa*البكتريا وذلك بتنشيط *Ps. Aeruginosa*عزلها من تربة زراعية حيث اختبرت القدرة التضادية للبكتريا NAالبكتريا على وسط الاجار المغذي

تاريخ تسلم البحث ٥ / ١٠ /٢٠٠٤ وقبوله ١٥ / ٦ / ٢٠٠٥

Nutrient Agarمن إنتاج شركة (Difco) وبعد التحضين لمدة٢٤ ساعة في درجة حرارة ٢٥-٢٧°م، تم تحضير المعلق البكتيري بقشط النمو البكتيري من سطح الوسط الغذائي بحلقة الزرع Loop وإضافته إلى محلول ملح فيسولوجي وقد ضبط التركيز ٥×١٠^٦ خلية بكتيرية/مل باستخدام شريحة العَد هيموسايتوميتر ثم نشر اللقاح على سطح الوسط الغذائي PDA المعقم والمجهز في أطباق بتري بقطر٩سم ، باستخدام قضيب زجاجي معقم و حضنت الأطباق لمدة٢٤ ساعة في درجة حرارة ٢٥-٢٧°م وبعد التحضين لقحت الأطباق في مركزها بقرص قطره ٥ ملم من حافة مزرعة الفطر *F.solani*بعمر أربعة أيام تم استخدام ثلاثة مكررات أما معاملة المقارنة فاشتملت على الوسط الغذائي بدون نشر البكتيريا . أخذت البيانات بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرات النامية بعد خمسة أيام من لتحضين في ٢٥- ٢٧° م .نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن.

اختبار تأثير المبيد بنليت على نمو البكتيريا*Ps.aeruginosa* : استخدمت التقانة الموصوفة من قبل Cruichshank وآخرون (١٩٧٤) حيث حضرت أقراص من ورق الترشيح المشبع بالمبيد الفطري بنليت الذي يحتوي على ٥٠%Benzimodazol بالتراكيز (صفرو٥٠ و١٠٠ و١٥٠) ملغم/لتر مادة فعالةواجري الاختبار بنشر معلق بكتيري على وسط PDA الصلبوزعت الأقراص بواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز ثم حضنت الأطباق في درجة جرارة ٢٥- ٢٧°م وبعد التحضين فحصت الأطباق للتحري عن منطقة التثبيط المحيطة بكل قرص.

اختبار تأثير المبيد بنليت على نمو الفطر*F.solani* مختبريا: استخدمت تقانة الوسط الزرعي المسمم Food poison techniqueتم استخدام التراكيز التاليةمن المبيد الفطري بنليت (صفرو٥٠ و١٠٠و١٥٠) ملغم/لترمادة فعالة في الوسط الغذائي PDA لدراسة تأثيرها على نمو الغزل الفطري للفطر *F.solani* وبعد صب الوسط في أطباق بتري زجاجية معقمة بقطر ٩سم لقح مركزها بقرص بقطر ٥ملم من حافة مستعمرة للفطر *F.solani* بعمر أربعة أيامإستخدمت ثلاثة مكررات لكل تركيز ، أخذت البيانات بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرات النامية بعد خمسة أيام من لتحضين في ٢٥-٢٧°م وحسبمنها نسبة التثبيط عن طريق العلاقة التالية (Camliel وKatan، ١٩٩٢)

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة-متوسط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة}} \times ١٠٠$$

نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن.

اختبار تأثير راشح البكتريا*Ps.aeruginosa* نمو الفطر*F.solani*: حضر الراشح من عملية تنمية البكتريا على وسط النقيع المغذي NB Nutrient Broth من انتاج شركة (Difco)ولمدة ٤٨ ساعة(Holtوآخرون ،١٩٩٤) في درجة حرارة ٢٥-٢٧°م ومن ثم إجراء عملية طرد مركزي للمزرعة السائلة (٤٠٠٠ دورة/دقيقة) وذلك لمدة عشرة دقائق لمرتين متتاليتين مع الغسل باستخدام محلول بفرBuffer solution (Phosphate buffer) درجة حامضيته pH=٧ لغرض الحصول على راشح المزرعة والذي أضيف إلى الوسط PDA المعقم قبل تصلبه بالنسب التالية (صفر و ١ و ٥ و ١٠ %) وبعد صب الوسط في أطباق بتري معقمة بقطر ٩سم، لقح مركزها بقرص بقطر ٥ ملم من حافة مستعمرة للفطر *F.solani* بعمر أربعة أيام ،استخدمت ثلاثة مكررات لكل تركيز، أخذت النتائج حساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرات النامية بعد خمسة أيام من لتحضين في ٢٥-

٢٧°م حسب منهانسبة التثبيط عن طريق العـ قة المشار إليها سابقاً. نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن.

اختبار تأثير راشح البكتريا*P.aeruginosa* على إنبات أبواغ الفطر*F.solani* :استخدمت تقانة شريحة الاجار الحاوية على التراكيز (صفر و ١ و ٥ و ١٠ %) من الراشح البكتيري وذلك بإضافة وسط الاجار المائي الحاوي على أحد هذه التراكيز على شريحة زجاجية نظيفة وبعد تصلب الاجار نشر عليها معلق أبواغ الفطر بتركيز٤×١٠^٦ بوغ/مل ، حضنت الشرائح لمدة ١٦ ساعة ثم حسب عدد الأبواغ النابتة بالفحص المجهري المباشر على قوة تكبير (x٤٠٠) في خمسة حقول مجهرية اختيرت بصورة عشوائية في كل شريحة واستخرج منها نسبة التثبيط (Dhingra و Sinclair،١٩٨٧)استخدمت ثـ ثة مكررات لكل تركيز نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن.

تـأثير استخدام البكتريا*Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت في مكافحة تعفن بذور وموت بادرات الطماطة المتسبب عن الفطر*F.solani* حقليا : نفذت التجربة تحت ظروف الحقل حيث جهزت أصص بـ ستيكية سعة ١كغم واستخدمت تربة مزيجية عقمت باستخدام مبيد البساميد بواقع ٤٠ غم/م^٣ تربة حيث نثر المبيد على التربة وخلطت بشكل جيد وغطيت لمدة عشرة أيام ثم تركت للتهوية لمدة أسبوع ، لوثت تربة الأصص بالفطر *F.solani* حسب طريقة Saydamواخرون (١٩٧٣) بواقع نصف طبق بتري لكل أصيص ثم سقيت الأصص بالماء وتركت لمدة ٣ أيام زرعت الأصص بالبذور بواقع (٢٥ بذرة /أصيص)التي تمت معاملتها أو معاملة تربة الزراعة بعوامل المكافحة الاحيائية والكيميائية المختبرة حيث اشتملت المعامـ ت على:

١:بذور معاملة بالبكتريا*Ps.aeruginosa* حيث نقعت بمعلق بكتيري بتركيز٤×١٠^٦ خلية بكتيرية/مل ولمدة ٤ ساعات (Nautiyal واخرون،٢٠٠٢) في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .

٢: بذور معاملة بالبكتريا *Ps.aeruginosa* والمزروعة في تربة أضيف إليها المبيد بنليت سقيا للتربة بواقع ٢٥ سم^٣ من محلول المبيد بتركيز٠.١غم / لتر إلى كل أصيص في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .

٣: زراعة بذورغير معاملة بالبكتريا*Ps.aeruginosa* في تربة أضيف إليها المبيد بنليت سقيا للتربة بواقع ٢٥سم^٣ من محلول المبيد بتركيز٠.١غم / لتر إلى كل أصيص في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .

٤: زراعة بذورغير معاملة بالبكتريا*Ps.aeruginosa* في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* .

٥: زراعة بذورغير معاملة بالبكتريا*Ps.aeruginosa* في تربة خالية من الفطر *F.solani* *معاملة* مقارنة .

ولكل المعامـ ت عقمت البذور سطحيا باستخدام محلول يحتوي على ١% هايبوكلورايت الصوديوملمدة ثـ ثة دقائق ثم غسلت ثـ ثة مرات بماء معقم ، أخذت النتائج بعد ١٠أيام لحساب نسب موت البادرات قبل وبعد البزوغ وبعد ٢٠ يوم وهي تمثل نسب تعفن الجذور ، وتم قياس طول البادرة وطول المجموع الخضري وطول الجذر وكذلك وزنها الجاف وذلك بأخذ خمسة بادرات بشكل عشوائي من كل معاملة ،اشتملت كل معاملة على أربعة مكررات خصص احد المكررات من كل معاملة لاختبار التحري عن الكثافة اللقاحية للفطر *F.solani*ـت تأثير المعامـ ت المختبرة أعـ ه .نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن.

تـأثير البكتريا*Ps.aeruginosa* والمبيد الفطري بنليت على عدد الوحدات التكاثرية Colony Forming Unite(CFU) للفطر *F. solani* في التربة المحيطة ببذور الطماطة.أخذت خمسة بذور بصورة عشوائية من كل معاملة بعد (٢٤ و٤٨ و٧٢ و٩٦) ساعة من الزراعة ، رفعت البذور باستخدام ملقط معقم ووضعت في أنابيب اختبار تحتوي على ١ سم^٣ ماء مقطر ومعقم سبق أن أضيف إليه مادة ناشرة Tween 20 و Na_2Co_3 بتركيز٠.٩% ثم وضعت الأنابيب في هزازShaker لمدة ساعة بسرعة(٥٠ هزة/دقيقة) ثم أزيلت البذور من الأنابيب وتم إجراءـ ثة تخافيف عشرية للمعلق ونشر واحد مل من التخفيف الأخير في طبق بتري حاوي على الوسط PDA الذي اضيف اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز ٥٠ ملغم / لتر اشتملت كل معاملة على أربعة أطباق ثم حضنت الأطباق في درجةحرارة٢٥-٢٧مْ وبعد التحضين لمدة ثـ ثة أيام تم حساب عدد المستعمرات النامية ثم ضرب الناتج في مقلوب التخفيف وقسم على عدد البذور لاستخراج

عدد الوحدات التكاثرية CFU المحيطة بكل بذرة (Smith وBurns،١٩٩٦ وBen وآخرون،١٩٩٩) نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل واختبرت النتائج بطريقة دنكن .

النتائج والمنا شة

العزل: أظهرت نتائج العزل من نسيج السويقة الجنينة لبادرات الطماطة المصابة عن ظهور الفطر *Fusarium solani* Mart والذي تم تعريفه حسب الصفات المظهرية وبالاعتماد على المفاتيح التصنيفية حيث تميزت مستعمرة الفطر باللون الكريمي وعند إجراء الفحص المجهري لوحظ وجود الأبواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia والأبواغ الكونيديةالكبيرة (Macroconidia) والأبواغ الكـ ميدية (Chladmydospores) وتميزت الأبواغ الكونيدية الصغيرة((Microconidia) بوفرتها ونشوئها منخ يا مولدة (Phialides) جانبية متطاولة وهي شفافة اللون أسطوانية متطاولة مكونة من خلية واحدة أو خليتين بأبعاد ٩-١٦ ×٢-٤ مايكروميتر ،أما الأبواغ الكونيدية الكبيرة(Macroconidia) فهي مقسمة الى ٣-٥ خ يا أسطوانية الشكل ذات نهاية معقوفة ولها خلية قدميه وتنشا في حوامل متفرقة قصيرة Sporodochium بابعاد ٤٠-١٠٠ × ٥-٧.٥ مايكروميتر اما الأبواغ الكـ ميدية (Chladmydospores) فقد تميزت بشكلها الكروي الى البيضوي وهي ملساء الى خشنة الجدار مكونة من ١-٣ خلية بابعاد ١٠-١١ ×٩-٨ مايكروميتر . وهذه المواصفات جاءت مطابقة للصفات التي وردت من قبل (Booth،١٩٧٠) كما أكدت قدرته المرضية بعد تطبيق فرضيات كوخ عليه.

اختبار القدرة التضادية للبكتريا *Ps.aeruginosa* ضد الفطر *F. solani*: أوضحت نتائج هذا الاختبار أن للبكتريا*Ps.aeruginosa* قدرة تضادية عالية ضد الفطر *F. solani* حيث منعت البكتريا نمو مستعمرة الفطر بشكل كامل في الوسط مسجلة نسبة تثبيط مقدارها ١٠٠ % وهذا يعود إلىالقدرة التضادية العالية لهذه البكتريا فقد سجل Gupta قابليتهاعلى إفراز عدة مضادات حيوية وأنزيمات توثر في نفاذية غشاء الخلية الفطرية وتعمل على انتفاخ الخيوط الفطرية وانفجارها وتحللها ومن هذه المواد Pyocyanin , Hydrocyanic acid (Gupta وآخرون،١٩٩٩)

تأثير المبيد الفطري بنليت على نمو البكتيريا *Ps.aeruginosa*: لم يكن للمبيد الفطري بنليت أي تأثير على البكتريا *Ps.aeruginosa*بالتراكيز الث ثة المختبرة وهذا يتفق مع ماذكره Agrios من ان المبيد بنليت هو مبيد فطري متخصص (Agrios،١٩٨٨).

تأثير المبيد الفطري بنليت في نمو الفطر*F.solani* مختبريا: يتضح من الجدول(١) إن المبيد بنليت قد سبب تثبيطا بنسبة ١٠٠% للفطر*F.solani* في كل من التركيزين ١٠٠و١٥٠ملغم /لتر وقد استطاع الفطر *F.solani* إن يحدث نموا بسيطا عند التركيز ٥٠ ملغم/لتر وقد جاءت هذه النتائج بشكل متوافق مع نتائج دراسات مماثلة وجميعها تشير إلى التأثير الفعال للمبيد الفطري بنليت ضد الفطر *F. solani* (طه والزرري،١٩٨٨ومحمد،٢٠٠٢)

الجدول (١): تأثير المبيد الفطري بنليت في نمو الغزل الفطري للفطر *F.solani* مختبريا

التركيز ملغم/لتر	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط
صفر	٦.٨٣ أ	صفر أ
٥٠	٠.٥٧ ب	٩٢ب
١٠٠	صفر ج	١٠٠ ج
١٥٠	صفرج	١٠٠ ج

* قورنت متوسطات كل صفة بشكل مستقل

**الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال ٥ % والعكس صحيح.

دراسة تأثير راشح البكتريا*Ps.aeruginosa* على إنبات و نمو أبواغ الفطر *F.solani*: يوضح الجدول(٢)إن جميع المعام ت بالراشح البكتيري قد أدت إلى خفض معنوي في النمو الفطري ولجميع التراكيز حيث بلغت أعلى قيمة للتثبيط في النمو٦٥.٣%وذلك عند التركيز١٠ % أما اقل قيمة للتثبيط في النمو ٥٢.٨% وذلك عند التركيز ١% أما فيما يخص تأثير راشح البكتريا *Ps.aeruginosa*على إنبات أبواغ الفطر فان جميع المعام ت بالراشح البكتيري قد أدت إلى خفض معنوي في إنبات أبواغ الفطر ولجميع التراكيز حيث بلغت أعلى قيمة للتثبيط الإنبات ٤٩.٥٣% وذلك عند

التركيز ١٠% أما اقل قيمة لتثبيط الإنبات١٤.١% وذلك عند التركيز١% وهذا يعود إلى قابلية البكتريا على إفراز مضادات حيوية وأنزيمات مثل مادة Pyocyanin التي توثر على الفعاليات الحيوية للفطريات (يعقوب،١٩٨٥).

الجدول (٢): تأثير راشح البكتريا*Ps.aeruginosa* في نمو الغزل الفطري وإنبات أبواغ الفطر*F.solani*

%لتركيز الراشح البكتيري	متوسط قطر المستعمرة (سم)	% لتثبيط النمو	% لمتوسط أعدد الأبواغ النابتة	%لتثبيط انبات الأبواغ
صفر	٦.٦٣أ	صفر د	٩٩أ	صفر د
١	٣.١٢ب	٥٢.٨ج	٨٥ب	١٤.١ج
٥	٢.٩ب	٦٥.٣ب	٧٩ب	٢٠.٢ب
١٠	٢.٣ج	٦٥.٣أ	٥٠ج	٤٩.٥٣أ

* قورنت متوسطات كل صفة بشكل مستقل

** الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمال٥ % والعكس صحيح

تأثير استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* والمبيد الفطري بنليت في مكافحة تعفن بذور وموت بادرات الطماطة المتسبب عن الفطر*F.solani* حقليا:تشير النتائج الموجودة في الجدول(٣) إلى أن النسب المئوية للإصابة قبل وبعد البزوغ وتعفن الجذور والإصابة الكلية قد اختلفت وبفارق إحصائي معنوي ولجميع المعام ت عن معاملة المقارنة وقد أبدت جميع المعام ت مقدرة عالية في خفض النسب المئوية للإصابة قبل وبعد البزوغ وتعفن الجذور والإصابة الكلية ولكنها اختلفت معنويا فيما بينها فقد أعطت معاملة استخدام البكتيريا*Ps.aeruginosa* مع المبيد بنليت اقل نسبة للإصابة قبل البزوغ بنسبة ٨.٣ %.وتـ ها معاملة استخدام المبيد بنليت بنسبة١١.٣% ثم معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa*بنسبة ٢٠ % ، و أعطت معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa* مع المبيد بنليت اقل نسبة للإصابة بعد البزوغ بنسبة ١٣.٦%. ولم تختلف معنويا عن معاملة استخدام المبيد بنليت بنسبة ١٣%ولكنها اختلفت عن معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa* بنسبة ٢٠ % وتفوقت معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa* مع المبيد بنليت في خفضنسبة الإصابة الكلية على باقي المعام ت معنويا بنسبة ٢٥.٥%.وتـ ها معاملة استخدام المبيد بنليت بنسبة ٢٩.٣% ثم معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa*بنسبة ٤٤% ومن هذه النتائج يمكن القول بأنه كان لاستخدام المبيد بنليت بشكل منفرد أو مع البكتيريا *Ps.aeruginosa* الأثر الكبير في الحد من الإصابة إذ أن نتائج استخدام المبيد بنليت قد جاءت متوافقة مع نتائج دراسات أخرى في هذا المجال(طه والزرري، ١٩٨٨ومحمد،٢٠٠٢) وتشير الدراسات في هذا المجال إلى فاعلية استخدام البكتيريا .*Pseudomonas* sp في خفض الإصابة بأمراض موت البادرات وتعفن الجذور لنباتات الحمص والبنجر السكري والفاصوليا والخيار والناجمة عن الفطريات *F.solani ,p.ultimum Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani, F.oxysporum* (Smithو Burns،١٩٩٦،محمد،٢٠٠٢وNautiyal واخرون٢٠٠٢)

أن هذا التأثير للبكتريا يأتي من خ ل إفراز البكتريا *Pseudomonas* sp لعدة مواد في منطقة المحيط الجذري ومنها Pyorerdin والتي تعمل كمادة ذات تأثير مخلبي للحديد وتجعله غير متيسر للفطريات مما يعمل على كبح نموها (Loper وHenkels،١٩٩٩و Yangو Crowley ،٢٠٠٠) أو من خ ل إنتاج البكتيريا .*Pseudomonas* sp لمركبات محثة للمقاومة مثل salicylic acid و Pyochelin وLipopolysc والتي تعمل على تنشيط آليات الدفاع النباتية وتحفيز انتاج الفايتوالكسين (Leeman واخـــــرون١٩٩٥ ،Buysens وآخـــــرون،١٩٩٦ وMeyerواخرون١٩٩٩)

الجدول(٣): فعالية البكتريا*Ps.aeruginosa* والمبيد بنليت في مكافحة الفطر *F.solani* حقليا

المعام ت	% لموت البادرات قبل البزوغ	%لموت البادرات ما بعد البزوغ	% لتعفن الجذور	%للإصابة الكلية

المقارنة	٢٦.٣ أ	٣٤.٣أ	٨.٦ أ	٦٩.٢ أ
Ps.aeruginosa	٢٠ ب	٢٠ب	٤ ب	٤٤ب
Ps.aeruginosa + بنليت	٨.٣ د	١٣.٦ج	٣.٦ ب	٢٥.٥ د
المبيد الفطري بنليت	١١.٣ج	١٣ ج	٥ ب	٢٩.٣ج

* قورنت متوسطات كل صفة بشكل مستقل

*الأرقام المتبوعة بأحرف مختلف تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال ٥ % والعكس صحيح.

***تم تصليح الارقام بحذف النسبة المئوية للبذور غير النابتة في معاملة المقارنة (بذور غير معاملة بالبكتريا في تربة غير ملوثة بالفطر *F.solani*)

تأثير استخدام البكتريا*Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت في مقاومة تعفن بذور وموت بادرات الطماطة المتسبب عن الفطر*F.solani* على بعض الصفات المدروسة لنبات الطماطة: يتضح من الجدول (٤) إن جميع عناصر المقاومة قد أثرت معنويا في معايير النمو للمجموع الخضري والجذري المدروسة لنباتات الطماطة حيث يـ حظ إن المعاملة باستخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* قد أعطت أفضل طول للمجموع الخضري ٧.٣سم ولم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة حيث كان طول المجموع الخضري٥.٥سم،أما تأثير المعامـ ت على طول الجذر فقد أعطت المعا ملتين باستخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* و البكتريا*Ps.aeruginosa* مع المبيد الفطري بنليت أفضل طول للجذر٤.٢ و ٤ سم على التوالي تليها معاملة المبيد بنليت حيث كان طول الجذر٣.٧ سم واختلفت جميع المعامـ ت معنويا عن معاملة المقارنة حيث كان طول الجذر ٣.١ سم ،وقد أثرت عناصر

المقاومة على الوزن الجاف فقد كانت افضل معاملة استخدام البكتيريا *Ps.aeruginosa* ٠.٣٦غم ثم معاملة المبيد بنليت٠.٣٤ غم تليها معاملة استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* مع المبيد بنليت٠.٣٣غم واختلفت معنويا عن معاملة المقارنة ٠.٢ غم وتشير الدراسات إلى إمكانية الحصول على نباتات سلمية وذات مواصفات جيدة نتيجة استخدام البكتيريا فقد تحققت زيادة معنوية في أطوال البادرات والوزن الطري والجاف وانعكس ذلك على زيادة معدلات النمو والحاصل بشكل معنوي كما آن اللقاح البكتيري يمكن آن يرفع القدرة الإنتاجية فقد أمكن الحصول على زيادة ثابتة في نمو وإنتاج عدة محاصيل منها البطاطا التي أعطت زيادة في الإنتاج بمقدار ٥ -٣٣% والبنجر السكري بمقدار٤-٦ طن/هكتار (Agrios،١٩٨٨و الجبوري ،١٩٩٨ والقرةغولي ،١٩٩٩) ويرجع السبب في هذه الزيادات في أطوال البادرات والوزن الطري والجاف في هذه المعامـ ت الى انخفاض نسبة الإصابة الكلية بالمرض ومما يعزز ذلك وجود ارتباط معنوي سالب بين النسبة المئوية للإصابة الكلية وأطوال المجموع الخضري والجذري والطول الكلي والوزن الطري والجاف بمعامل ارتباط سالب وقدره-٠.٥٤٢،-٠.٦٤ ،-٠.٢٢٦ ،-٠.٥٠٦ ،-٠.٥١٦، على التوالي.

الجدول(٤): تأثير استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت في مكافحة تعفن بذور وموت بادرات الطماطة المتسبب عن الفطر*F.solani* على بعض معايير النموالمدروسة لنبات الطماطة

المعامـ ت	طول البادرة الكلي / سم	طول المجموع الخضري/ سم	طول الجذر / سم	وزن البادرة الجاف/ غم
مقارنة بدون الفطر	١١.١أ	٧.٥أ	٣.٦ب	٠.٢٥ب ج
معاملة المقارنة	٩.٤ج	٦.٣ج	٣.١ج	٠.٢ج
Ps.aeruginosa	١١.٥أ	٧.٣أ	٤.٢أ	٠.٣٦أ
Ps.aeruginosa+ بنليت	١١.١أ	٧.١أ	٤أ	٠.٣٣أ ب
المبيد الفطري بنليت	١٠.٦ب	٦.٩ب	٣.٧ب	٠.٣٤أ ب

* قورنت متوسطات كل صفة بشكل مستقل

**الأرقام المتبوعة بأحرف مختلف لكل عمود تدل على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمال ٥% والعكس صحيح.

تأثير البكتريا *Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت على عدد الوحدات التكاثرية CFU للفطر *F. solani* في التربة المحيطة لبذور الطماطة: يتضح من الجدول (٥) إن جميع عوامل المكافحة قد اثرت معنويا في عدد الوحدات التكاثرية CFU للفطر *F. solani* في التربة المحيطة ببذور الطماطة ،حيث يـ حظ ان المعاملة بالمبيد بنليت قد أعطت افضل خفض معنوي لعدد الوحدات التكاثرية بعد ٩٦,٧٢,٤٨,٢٤ ساعة حيث كانت ٦.٥ , ٦ , ٥.٢, ٥ x ١٠^{٢} وحدة تكاثرية/بذرة على التوالي ولم تختلف معنويا عن معاملة استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت وتلي ذلك معاملة استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* حيث كان عدد الوحدات التكاثرية بعد ٩٦,٧٢,٤٨,٢٤ ساعة ،٢٠,١٩,١٧,١٤ x ١٠ ^{٢} وحدة تكاثرية/بذرة على التوالي. وتشير الدراسات في هذا المجال إلى إن البكتريا تعمل على كبح نمو الفطريات الممرضة من خ ل التطفل المباشر على غزولها أو من خ ل المنافسة القوية على العناصر الغذائية ، وتلعب المنافسة على عنصر الحديد دورا كبيرا في هذا المجال من خ ل إنتاج البكتريا لمركبات sidrophore وهي مركبات خالبة للحديد تشتق من مركب Hydroxamic ومنها Hydroxamate ,Pyochlius ,Flurescent وتعمل هذه المركبات من خ ل المنافسة القوية على الحديد على تثبيط نمو الغزل الفطري وإنبات الأبواغ وقد كان لاستخدام البكتريا *Ps. putida* و *Ps. fluorescens* مع بذور الفاصوليا والقرنفل والبنجر السكري وزهرة الشمس الأثر الكبير في تثبيط الفطريات *Sclerotini M. phaseolina , P.ultimum , F.solani sclerotiorum*(Duijff واخرون ، ١٩٩٣وExpert وآخرون ،١٩٩٥وEllis واخرون ،١٩٩٩وLim وآخرون ،١٩٩٩)

الجدول (٥): تأثير البكتريا *Ps.aeruginosa* و المبيد الفطري بنليت على عدد الوحدات التكاثرية C F للفطر *F. solani* في التربة المحيطة لبذور الطماطة .

المعامـ ت	عدد الوحدات التكاثرية CFU × ١٠^{٢}			
	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة
المقارنة	١٧د	٢٦.٦ ب	٢٧ أ ب	٢٩ أ
Ps.aeruginosa	١٤ هـ	١٧د	١٩ج	٢٠ج
Ps.aeruginosa+ بنليت	٦و	٥.١٦ و	٦.٥ و	٦.٤ و
بنليت	٦.٥ و	٦ و	٥.٢ و	٥ و

*الأرقام المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرو قات معنوية عند مستوى احتمال ٥ % والعكس صحيح.

BIOLOGICAL AND CHEMICAL CONTROL OF DAMPING OFF AND ROOT ROT OF TOMATO CAUSED BY *Fusarium solani* WITH *Pseudomonas aeruginosa* AND THE FUNGICIDE BENLATED

Bassam Yahya Ibraheem
Dept. of Plant Protection, College of Agric. and Forestry Mosul Univ., Iraq

ABSTRACT

The present study revealed that the use of *Pseudomonas aeruginosa* and the fungicide Benlate greatly suppressed Fusarium damping off and root rot of Tomato caused by *Fusarium solani*,Benlat showed high level of antagonism against *F. solani* and that caused significant reduce in mycelium growth 100% and spores germination 49.53% in laboratory . It was also showed that Benlate has no toxic effect to *Ps. aeruginosa* while it caused effective suppression to *F.,solani* where the percentage of mycelium growth inhibition was 100% at 150 mg/L active ingredient of Benlate ,The interaction between *Ps. aeruginosa* and Benlate caused high suppression to Tomato seedling

infection with *F.solani* in addition to significant increase in plants growth features.

المصادر

الجبوري ،صبا باقر عبد خلف (١٩٩٨).اللقاح البكتيري *Pseudomonas flurescens* على محصول القطن : الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض الخناق *Rhizoctonia solani* .رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ،جامعة بغداد.

القره غولي ،جبار محسن جابر حسين (١٩٩٩).تأثير البكتريا *Pseudomonas flurescens* والمعاملة بالكالسيوم على مسببي التعفن الطري *Erwinia carotovora var carotovora* ومرض التعفن الجاف *Fusarium solani* على درنات البطاطا في الحقل وأثناء الخزن ، أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ،جامعة بغداد .

طه ، خالد حسن وعبد الجواد بشير الزرري (١٩٨٨).المكافحة الكيماوية للفطريات المسببة لمرض موت بادرات وعفن جذور التبغ ، مجلة وقاية النبات العربية ٧٩:٦٠-٨٣

محمد ،نهال يونس (٢٠٠٢).دراسة لمرض تعفن بذور وموت بادرات الفاصوليا ومكافحته إحيائيا. رسالة ماجستير، كلية العلوم،جامعة الموصل.

يعقوب ،حازم حنا (١٩٨٥).إنتاج البيوسيانين Pyocyanin من بكتريا*Pseudomonas* وإمكانية استخدامه كمطهر في مجال الصناعات الغذائية . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ،جامعة بغداد.

Abada, K.A.(1994). Fungi causing damping-off and root-rot on sugar beet and their biological control with *Trichoderma harzianum*. Agriculture, Ecosystems & Environment, 51:333-337.

Agrios,G.N.(1988).Plant Pathology. Academic press . 802pp.

Beigh,G.M.,G.H.Dar,B.A.Bhat&M.Y.Zargar(1998).Biological control of Fusarium root rot in common bean with *Rhizobium leguminosarum*. J. of Hill Research, 11:166-170.

Ben ,J. D., R.Ghislaine ,A.H. Peter, H. M. Bakker, J. E. Loper& P. Manceau (1999). Microbial antagonism at the root level is involved in the suppression of *Fusarium* wilt by the combinationof nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. Phytopathology, 89:1073-1097

Booth,C.(1970).The Genus Fusarium Commonwealth Mycological Institute,Kew Surry.237pp.

Buysens,S., K.Heungens ,J. Poppe & M. Höfte (1996). Involvement of pyochelin and pyoverdin in suppression of *Pythium*-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. Applied and Environmental Microbiology 62:865–87

Camliel,A and J.Katan (1992).Influnce of seed and root exudates on Fluoresent Pseudomonads and fungi in solarized soil .Phytopathology 82:320-327.

Cruichshank,R.,J.P.Duguia,B.P.Marnio & S.Swain (1974).Medical Microbiology . Acadmic press 342pp.

Dhingra,O.D.& B. Sinclair (1987). Basic Plant Pathology Methods .CRC press 235pp.

Duijff,B.J.,J.W.Meijer,P.Bakker&B.Schippers (1993).Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of Fusarium wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. Netherlands Journal of Plant Pathology, 99:277–289.

Ellis, R.,T. Timms-Wilson,J. Beringer ,D. Rhodes,A. Renwick ,L.Stevenson & M. Bailey (1999). Ecological basis for biocontrol of damping-off disease by *Pseudomonas fluorescens* 54/96. Journal of Applied Microbiology, 87:454-463.

Expert,J.M.&B. Digat (1995). Biocontrol of Sclerotinia wilt of sunflower by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains. Canadian Journal of Microbiology, 41:685-691.

Gray, L.E.,L.A. Achenbach,R.Duff &D.Lightfoot (1999). Pathogenicity of *Fusarium solani* f.sp. *glycines* isolates on soybean and green bean plants. Journal of Phytopathology, 147:281-284.

Gupta,C.P.,A.Sharma,R.Dubey&D.Maheshwari (1999).*Pseudomonas aeruginosa* as a strong antagonist of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum. Cytobios*, 99:183-189.

Hoefnagels, M.H.&R. Linderman (1999). Biological suppression of seedborne *Fusarium* spp. during cold stratification of Douglas fir seeds. Plant Disease, 83:845-852

Holt,J.G.N.R. Krieg,P.A.Seath,J.T.Staley &S.T.Williams (1994).Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed. Williams & Williams comp .Baltimore,USA.

Leeman,M.,J.van Pelt,F.Den Ouden, M.Heinsbroek , P. Bakker& B. Schippers (1995). Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology, 85: 1021–1027.

Lim, H.,L.M. Jung & S. Kim (1999). Role of siderophore in biological control of *F.solani* by *Pseudomonas fluorescens* GL20. Bulletin of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University,7:47-58.

Loper, J.& M. Henkels (1999). Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. Applied and Environmental Microbiology, 65: 5357–5363 .

Meyer,G.,K.Capieau,K.Audenaert,A.Buchala,J. Métraux &M. Hofte (1999). Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. Molecular Plant-Microbe Interactions, 12:450-458.

Mogilaiah, K.,P. Reddy & R. Rao (1999). Synthesis and antimicrobial activity of 1,8-naphthyridinyl-4-thiazolidinones/1,3-thiazin-4-ones/2-azetidinones. Indian Journal of Chemistry, 38:495-500.

Nautiyal,C.S.,J.K.Johri,& H.B.Singh (2002).Survival of the rhizospher – competent biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* NBRI2650 in the soil and phytosphere.Can.J.Microbiol,48: 588-600.

Perveen ,S.,S. Ehteshamul-Haque & A. Ghaffar (1998). Efficacy of *Pseudomonas aeruginosa* and *Paecilomyces lilacinus* in the control of root rot-root knot diseasecomplex on some vegetables.Nematologia Mediterranea,26: 209-212.

Saydam, C. M.,A.T.Copeu & E.Sezgin (1973). Studies on inoculation techniques of cotton wilt cussed by *Verticillium dahliae*, Invesation on

the laboratory inoculation techniques.J.Turkish, Phytopathology, 2:69-75.

Smith,D.A.& R.G.Burns (1996). Biological control of damping off of sugar beet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets.Plant pathology,45:572-582.

Yang C-H, Crowley DE(2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. Applied and Environmental Microbiology, 66: 345–351 .