تثبيط فطر Fusarium solani المسبب للذبول على البندورة باستخدام بعض الأحياء الدقيقة

 $^{(1)}$ ومحمد العظمه $^{(2)}$ ومحمد أبو غرة الغظمه معمود أبو غرة الغطمة $^{(2)}$

- (1). قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سورية.
- (2). مخبر التنوع الحيوي، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

(*المراسلة: م. ريم الخليف، البريد الإلكتروني: reem.alkhlif@damascusuniversity.edu.sy)

تاريخ الاستلام:7/70/2023 تاريخ الاستلام:7/08/13

الملخص:

نُفذ البحث في البيت الزجاجي التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوبة في دمشق خلال موسم 2021 -2022، بهدف دراسة تأثير فطر من الميكوربزا الشجرية الحويصلية Glomus spp. (VAM) وفطر Trichoderma harzianum وعزلات بكتيرية من المحيط الجذري لنباتي البندورة والنفل الارجواني Trifolium purpureum في مكافحة الفطر Fusarium solani المسبب لذبول البندورة، في الأصص. تتبع العزلات البكتيرية للنوع Pseudomonas fluorescens والنوع Pseudomonas fluorescens ومعرفة بيوكيميائياً. تمت مقارنة تأثير المعاملات بناءً على الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري للنباتات وطول النبات وشدة المرض (%) وفق السلم المعتمد ونسبة الإصابة (%). كانت أفضل العزلات البكتيرية في مكافحة النوع F.solani هما العزلتان C33 و F63 التابعتان للنوع Pseudomonas fluorescens (شدة المرض 3.33 و 6.67% على التوالي)، كما زادتا مؤشرات النمو للنباتات المعاملة بهما (ارتفاع النبات 70 و63.25 سم، الوزن الجاف الخضرى 5.05 و4.75 غ، الوزن الجاف الجذري 4.35 و4.9 غ، على التوالي). كما أعطت العزلة K11 التابعة للنوع Bacillus cereus كفاءة مماثلة (شدة المرض 6.67%، ارتفاع النبات 76 سم، الوزن الجاف الخضري 6.55 غ، الوزن الجاف الجذري 4.025 غ)، ولم يكن بينها وبين المعاملة بالفطر Trichoderma فروق معنوية في تثبيط الممرض وزيادة مؤشرات النمو (شدة المرض 6.67%، ارتفاع النبات 69.75 سم، الوزن الجاف الخضري 6.05 غ، الوزن الجاف الجذري 3.075 غ). كذلك بالنسبة للعزلة RIZN التابعة للنوع Bacillus cereus فقد كبحت الإصابة بالمرض بشدة 3.33% ولكنها لم تحدث زبادة في مؤشرات النمو للنباتات المعاملة. وحدثت أكبر زبادة في الوزن الجاف للجذور في المعاملة بالعزلة البكتيرية F63، ولم تحدث هذه العزلة ولا المعاملة بالميكوريزا الحويصلية VAM فروقاً معنوبة مع الشاهد السليم بالنسبة لوزن الجذر (4.9 و 4.4 و 3.25 غ على التوالي). الكلمات المفتاحية: Pseudomonas fluorescens Bacillus cereus Fusarium solani! Trichoderma harzianum، الميكوريزا الشجرية الحويصلية، سورية

المقدمة:

تعد البندورة في سوريا من أهم محاصيل الخضراوات، والتي تشكل مصدراً مهماً للدخل بسبب إنتاجيتها العالية والتكلفة المنخفضة نسبياً للإنتاج، وتساعد درجات الحرارة المعتدلة المزارعين في إنتاج البندورة على نطاق واسع في الحقول المكشوفة إضافة للمناخ المعتدل في المنطقة الساحلية الذي أدى لانتشار زراعة البندورة المحمية بصورة رئيسية في محافظة اللاذقية، وتأتي محافظة طرطوس في المقدمة من حيث عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة وتليها محافظة اللاذقية، حيث بلغت المساحة المزروعة بالبندورة في سوريا 14458 هكتار لعام 2020 ووصل انتاجها الى 780617 طن وكانت الغلة 2992 كغ/هكتار. أما عدد البيوت البلاستيكية المزروعة بالبندورة فكان 97547 بيت بمساحة 3902 هكتار حيث بلغ انتاجها 487735 طن وكانت الإنتاجية 5000 كغ/ البيت (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية , 2020)

يعد مرض ذبول فوزاريوم Fusarium wilt أحد أهم أمراض الذبول الوعائي الفطرية يحدث نتيجة نمو الخيوط الفطرية للفطر الممرض F.solani داخل أوعية الجذور في النبات، يصيب بشكل أساسي الخضار الحولية ونباتات الأزهار والمحاصيل المزروعة وبعض الأشجار، وهو من الفطريات المحمولة بالتربة Soil born يصيب النبات عن طريق الجذور التي يخترقها مباشرة أو عن طريق الجروح وبعد اختراق الفطر جذر النبات فإن الميسيليوم يصل الى أوعية الخشب وينتج ثلاث أشكال من الأبواغ اللاجنسية وهي الأبواغ الكونيدية الصغرى والأبواغ الكونيدية الكبرى والأبواغ الكلاميدية، كما يتناسب مع الظروف البيئية الدافئة (Agrios,2005) تعد المكافحة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة طريقة بديلة للمكافحة الكيميائية وأحد أهم أسس الزراعة المستدامة والإدارة المتكاملة لمكافحة الفطريات المسببة للأمراض النباتية (Lugtenberg and Kamilova, 2009). وتعد بكتيريا المحيط الجذري المتكاملة لمكافحة الفطريات المسببة للأمراض النباتية أذ تتكيف للعيش في المحيط الجذري لجذور النباتات حيث تعيش حياة تكافلية معها (Rhizobacteria عامل مهم في المكافحة الحيوية إذ تتكيف للعيش في المحيط الجذري لجذور النباتات حيث تعيش حياة تكافلية معها (Nihorimbere et al., 2011).

يقد الجنسان البكتيريان B. subtilis و Petatán et al., 2011). إذ تقوم بكتيريا المستخدمة في الزراعة لأنها من البكتيريا المحفزة لنمو النبات وعوامل مكافحة حيوية للفطريات (Petatán et al., 2011). إذ تقوم بكتيريا B. subtilis بنتيط نمو العديد من مسببات الأمراض النباتية في التربة، بما في ذلك Ebhattacharjee and Dey, 2014) وإنتاج مواد مضادة للفطريات ثنائية الببتيدات الميكروبي، وإنتاج المضادات الحيوية (subtilisin) bacteriocin) وإنتاج المضادات الحيوية (Elkahoui et al., 2012)، وإنتاج مواد مضادة للفطريات مثل الببتيدات الدهنية Lipopeptides والمنافسة على العناصر الغذائية (Elkahoui et al., 2012). كما تقوم Lipopeptides وبقمع الفطريات الممرضة للنبات عن طريق نواتج الاستقلاب التي تنتجها مثل السيدروفور وإنتاج الإنزيمات الخارج خلوية التي لا تؤذي الخلية البكتيرية والمنافسة واستعمار المحيط الجذري (Weller, 2007). أثبت , B. amyloliquefaciens و B. cereus و B. amyloliquefaciens و B. subtilis ووحدوث المرض. فكانت أقل حالات الإصابة بالمرض وأعلى نسبة في مكافحة المرض (18.75)، 28.18% على التوالي) مقارنة وحدوث المرض. فكانت أقل حالات الإصابة بالمرض وأعلى نسبة في مكافحة المرض (18.75)، 81.2% على التوالي) مقارنة مع الشاهد (100%، 0%) في معاملة Cereus على التوالي) مقارنة مع الشاهد (28.04.04)، 24.18% المكافحة الحيوية ويستخدم في مكافحة الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة (16.76). ومن آليات Trichoderma spp في المكافحة، التطفل الفطري، وتحريض المقاومة الجهازية، والمنافسة، وإنتاج ومن آليات Trichoderma spp في المكافحة، التطفل الفطري، وتحريض المقاومة الجهازية، والمنافسة، وإنتاج

المستقلبات مثل Qualhato et al., 2013). في دراسة , glisoprenins ، peptaibols ، gliovirin ، heptelidic acid ، richolin ، وهي عوامل قاتلة لمسببات الأمراض النباتية (Qualhato et al., 2013). في دراسة , Salami et al. في دراسة , Qualhato et al., 2013) قام باستخدام كلا الفطرين الفطرين ولا النبات في البندورة في تجربة الأصب في البيت القدرة البلاستيكي، أظهرت عوامل المكافحة الحيوية انخفاضاً كبيراً في شدة المرض وزيادة في طول النبات ووزن الثمار . وكانت القدرة التضادية للفطر وكانت القدرة على التوالي). كما التضادية للفطر G. facultative فوزاريوم أقل بالمقارنة مع الهند في مكافحة ذبول فوزاريوم على البندورة وتعزيز نمو النبات في ظروف المخبر والحقل، خفض T. harzianum شدة الإصابة بنسبة 29.67% كما زاد طول النبات (69.53 سم) وطول الخبر والحقل، خفض 49.43 و63.86 و49.43 سم على التوالي).

كما تستخدم فطريات الميكوريزا الشجرية (AMF) Arbuscular mycorrhiza fungi في مكافحة الأمراض المحمولة بالتربة فهي تقوم بحماية جذور النبات من الإصابة عن طريق تشكيل حاجز فيزيائي أو من خلال بروتينات الدفاع النباتية وتحفيز الاستجابات الدفاعية في النباتات كالمقاومة الجهازية المحرضة (Atalla et al., 2020) كما تعمل فطريات الميكوريزا على زيادة نمو النبات من خلال التعايش مع النبات ومن خلال اختراق الخيوط الفطرية في جذور النباتات وتحسين التغنية والحماية من الإجهادات الحيوية واللاحيوية. (Cely et al., 2016). بينت رزق (2014) تأثير فطر الميكوريزا والميكوريزا والفوزاريوم معاً البندورة في الزراعة المحمية إذ سجلت انخفاض في شدة الإصابة بمرض الأبول عند النباتات المعاملة بالميكوريزا والفوزاريوم معاً بلغت 33% مقارنة بالشاهد المعدى الذي سجل نسبة مئوية لشدة الإصابة بلغت 70%. وبينت النتائج زيادة معنوية في طول النبات وعدد الأوراق والوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري في النباتات المعاملة بالميكوريزا وبالفوزاريوم معاً مقارنة مع نبات البندورة من خلال دراسة شدة المرض (%) ونسبة الإصابة (%)، وتأثيرها على مؤشرات النمو المدروسة (طول النبات، الوزن الجاف للمجموع الخضري والوزن الجاف للمجموع الجذري) في تجربة نصف حقلية (تجربة النبت الزجاجي)

مواد البحث وطرائقه:

1-العزلات:

تم الحصول على 4 عزلات بكتيرية تابعة للنوع Bacillus cereus ثلاث منها (I91, J02, K11) معزولة من المحيط الجذري 4 تابت النبدورة وعزلة واحدة (RIZN) معزولة من المحيط الجذري لجنور نبات النفل الأرجواني RIZN) معزولة من المحيط البندورة عزلات بكتيرية تابعة للنوع A12, B22, C33, F63) Pseudomonas fluorescens معزولة من المحيط الجذري لنبات البندورة وعُرفت بيوكيميائياً وأجري اختبار التضاد لها مخبرياً ضد الفطر الممرض F. solani ويوضح الجدول (1) الاختبارات البيوكيميائية التي استخدمت في تعريف العزلات البكتيرية (Alkhlif et al.,2023,b) قبل النشر) كما تم الحصول على العزلة الشرسة لمسبب ذبول فوزاريوم (FU6) Fusarium solani من خلال عزل 9 عزلات فطرية وتعريفها شكلياً بناءً على الصفات الزرعية والمجهرية وإجراء اختبار الإمراضية لعزلات الفطر الممرض على صنف البندورة القابل للإصابة(susceptible) "سمرتيترا" (susceptible) "مدتبار الهيئة العامة للتقانة الحيوية وكلية الزراعة في جامعة دمشق.

2-اختبار قدرة الأحياء الدقيقة في تثبيط نمو الفطر الممرض Fusarium solani على البندورة في الأصص

تم تحضير معلق بوغي لعزلة الفطر المدروس Fusarium solani العزلة 8 بتركيز 10 وكانت المعاملات كالتالي: 8 أصص فيها شتول معداة بالمسبب المرضى فقط 8 (شاهد إيجابي).

- 2. أصص فيها شتول سليمة كشاهد سليم غير معدى (شاهد سلبي).
- 3. أصص فيها شتول معاملة بالعزلات البكتيرية المذكورة ومعداة بالمسبب المرضي. حيث تم تحضير معلق بكتيري من العزلات البكتيرية (A12, B22, C33, F63, I91, J02, K11, RIZN) بتركيز 10¹⁰خلية/الله لكل عزلة على حدا. حيث اختبرت فعاليتها في تثبيط المرض على صنف البندورة القابل للإصابة "سمرتيترا"، وذلك بغمس جذور شتول البندورة بعمر أسبوعين بالمعلق البكتيري ثم زراعتها في الأصص وبعد 48 ساعة تمت معاملتها بالمعلق البوغي لأبواغ الفطر وكررت العدوى بالفطر الممرض بعد 10 أيام. وكررت معاملة الشتول بالعزلات البكتيرية بعد أسبوعين وذلك بمعاملة التربة بالمعلق البكتيري (2 مل لكل شتلة).
- 4. أصص فيها شتول معاملة بالفطر $Trichoderma\ harzianum$ بتركيز 1^7 بوغة 1مل (مبيد بيو 1 WP TH انتاج وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي) كانت الجرعة الأولى بعد نقل الشتول مباشرة فاستخدمت نثراً على التربة قبل الري بمعدل 1 كغ/ 1متر مكعب تربة (2غ للشتلة) وبعد 18 ساعة تمت معاملتها بالمعلق البوغي لأبواغ المسبب المرضي وكررت العدوى بعد 10 أيام. كما تم تكرار المعاملة بالفطر 10 بعد 12 يوم من المعاملة الأولى.
- 5. أصص فيها شتول معاملة بالميكوريزا الحويصلية الشجرية Vesicular-arbuscular mycorrhiza VAM الجنس Vesicular-arbuscular mycorrhiza VAM بتركيز 84 بوغ / 100غ لقاح تم وضعه بمعدل 10 غ لقاح في حفرة زرع الشتلة، قبل نقلها مباشرة وبعد 48 ساعة تمت معاملتها بالمعلق البوغي للفطر الممرض وكررت العدوى بعد 10 أيام، وتمت المعاملة بالميكوريزا بعد أسبوعين من المعاملة الأولى بمعدل 1 مل معلق بوغي/لتر ماء (200 مل للشتلة الواحدة)

تم إكثار فطر وأبواغ الميكوريزا على جذور نبات الذرة الصغراء المعقمة سطحياً بالسماد الحيوي (Sivasakthivelan,2007 القحت بذور الذرة الصغراء المعقمة سطحياً بالسماد الحيوي (Sivasakthivelan,2007 التكاثر (Sivasakthivelan,2007 بتركيز (المستحضر على شكل ابواغ وهيفات الفطر AS) Aqueous suspension بتركيز 100 وحدات التكاثر الحية الكلية / مل بشكل معلق مائي (AS) Aqueous suspension) تم نقع البذور بالمستحضر لمدة ربع ساعة ثم نقلت الى أصص بقطر 50 سم تحوي خلطة ترابية معقمة شمسياً (تورب: رمل: تربة زراعية 1: 1: 1) بمعدل 6 مكررات (اصص) و الى أصص بقطر 50 سم تحوي خلطة ترابية معقمة شمسياً النبات الى طور مظهري 4 أوراق حقيقية تم فحص الجذور وحساب النبات الى طور مظهري 4 أوراق حقيقية تم فحص الجذور وحساب النسبة المئوية الاستعمار الجذور (PRC) Percentage Root Colonization (PRC) حيث تم اختيار 12 نبات ذرة بشكل عشوائي من اصل 36 نبات واختير من كل نبات 5 جذور بطول 10 سم قُسمت الى قطع بطول 1 سم (50 قطعة من كل نبات) وضعت جذور كل مكرر في أنبوب زجاجي منفرد ، تم غسل الجذور جيداً تحت المياه الجارية ، أضيفت للأثابيب 10% (10 المنيوم وتم تسخينها في حمام مائي بدرجة 90 س لمدة ساعة ثم اخذت الجذور ووضعت في حمض كاور الماء 14 % 10% لمدة 5-5 دقائق ، يفرغ الحمض مع عدم الغسيل بالماء الان الصبغة تحتاج لوسط حامضي وغمرت الجذور بصبغة ازرق ترببان Trypane blue وسخنت في حمام مائي بدرجة 90 س لمدة 15 دقيقة او تترك لمدة 42 مساعة بدون تسخين، وضعت القطع الجذرية المصبوغة على شريحة زجاجية وغطيت بساترة وفحصت تحت المجهر الضوئي ساعة بدون تسخين، وضعت القطع الجذرية المصبوغة على شريحة زجاجية وغطيت بساترة وفحصت تحت المجهر الضوئي

(تكبير ×400) لحساب النسبة المئوية لاستعمار الجذور PRC% وحسبت النسبة المئوية لاستعمار الجذور وفق المعادلة (and Hayman, 1970)

 100×100 العدد القطع الجذرية المستعمرة / العدد الكلي القطع الجذرية المدروسة \times PRC

بعد التأكد من وجود الفطر في الجذور تم ترك نباتات الذرة حتى النضج مع إيقاف الري لمدة أسبوعين لتحريض فطر الميكوريزا الداخلية على انتاج ونثر الابواغ في التربة المحيطة بالجذور وبعد جفاف نبات الذرة تم قطع المجموع الخضري والاحتفاظ بالمجموع الجذري مع التربة المحيطة به كلقاح ميكوريزي، حيث تم تقطيع الجذور وخلطها مع التربة وتعبئتها ضمن أكياس بلاستيكية وحفظت بدرجة حرارة 4 س لحين الاستخدام علماً انه يمكن حفظها لمدة عام على هذه الحرارة (khrieba et al.,2016). كما تم أخذ 6 عينات من اللقاح الميكوريزي المتمثل بالمجموع الجذري لنبات الذرة والتربة المحيطة به، بحيث تحوي كل عينة 100 غ واستخرجت الابواغ بطريقة المناخل الرطبة والتثفيل بالسكروز (khrieba,2013;Quilambo,2003) وتم حساب متوسط عدد الابواغ تحت المكبرة (Optic Ivymen System) وقم تصنيف الفطر والعيفات وشكلها (Blaskowski,2003) وتم تصنيف الفطر

الجدول (1): الاختبارات البيوكيميائية التي استخدمت لتعريف العزلات البكتيرية (Alkhlif et al.,2023,b)، قُبل النشر)

| () | •. | , | | • | | ڀ | | 3. · () • 3 · |
|-----------------------------------|----------|-----------|---------|---------|----------|--------------|-------------------|------------------------|
| RIZN | K11 | J02 | I91 | F63 | C33 | B22 | A12 | رمز العزلة البكتيرية |
| عصوية | عصوية | عصوية | عصوية | عصوية | عصوية | عصوية | عصوية | شكل الخلية |
| | ئل سطور | مرتبة بشك | | | م عشوائي | | | |
| + | + | + | + | - | - | - | - | غرام |
| + | + | + | + | - | - | - | - | التبوغ |
| - | - | - | - | + | + | + | + | الاكسيداز |
| - | - | - | - | + | + | + | + | انتاج الصبغات الوميضية |
| - | - | - | - | - | - | - | - | فرط الحساسية على التبغ |
| هوائية | هوائية | هوائية | هوائية | هوائية | هوائية | هوائية | هوائية | التنفس |
| اختيارية | اختيارية | اختيارية | اجبارية | اجبارية | اجبارية | اجبارية | اجبارية | |
| + | + | + | + | + | + | + | + | الكاتلاز |
| + | + | + | + | + | + | + | + | تحمل %NaCl 2 |
| - | - | - | - | + | - | + | - | میتیل رید |
| - | - | - | + | + | + | + | + | اليورياز |
| + | + | + | + | - | - | - | - | تحلل البكتين |
| + | + | + | + | + | + | + | + | تحلل الجيلاتين |
| + | + | + | + | - | + | + | - | تحلل النشاء |
| + | + | + | + | + | + | + | + | الحركة |
| + | + | + | + | - | - | - | - | voges-proscaver |
| + | + | + | + | - | - | - | - | حلمهة الدم |
| نمط βhemolytic وتأخذ اللون الأخضر | | | | | | | | |
| | | | | | | | تكوين الكريستالات | |
| | Bacillus | cereus | | Pse | rudomona | تعريف العزلة | | |
| | | | | | | | | |

حيث ان: (+) إيجابي positive، (-) سلبي Negative

3-تصميم التجربة

زرعت التجربة بـ 4 مكررات (أصص) وبمعدل 3 نباتات في المكرر الواحد تبعاً للتصميم العشوائي الكامل Complete (حجم) معقمة (Randomized Design (CRD) وكانت الخلطة الترابية مكونة من تورب TS2 ورمل وتربة زراعية بنسبة 1:1:1 (حجم) معقمة بالاتوكلاف، وبعد 3 أشهر من الزراعة تم قلع النباتات ودرست المؤشرات التالية:

- 1. شدة المرض وفق السلم المعتمد والنسبة المئوبة للإصابة
 - 2. الوزن الجاف للمجموع الخضري وارتفاع النباتات
 - 3. الوزن الجاف للمجموع الجذري

قُدرت شدة المرض (%) وفقاً لسلم خماسي (Paz-Lago D. et al.,2000) على شتلات البندورة كالتالي:

- (1) نبات سليم، (2) بداية ظهور أعراض الذبول، (3) ذبول واصفرار الأوراق وتلون بني في الأوعية الناقلة بنسبة 50%
- (4) ذبول واصفرار الأوراق وتلون بني في الأوعية الناقلة يصبح أكثر وضوحاً وبنسبة 75% وبداية موت النباتات، (5) جفاف وموت كامل النبات بسبب الذبول. وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض بالمعادلة التالية:

شدة المرض (%)=[مجموع (عدد النباتات المصابة في تلك الدرجة× قيمة الدرجة) / عدد كل النباتات × قيمة اعلى درجة]× 100 بالإضافة لقياس نسبة الإصابة (%) على النباتات وفقاً للمعادلة التالية (Haruna et al.,2012)

نسبة الإصابة (%) = عدد النباتات المصابة/عدد النباتات في التجرية ×100

التحليل الاحصائي

تم تحديد معنوية البيانات المدروسة وجرى تحليلها إحصائياً باستخدام برنامج IBM SPSS الإصدار 25 بطريقة تحليل التباين ANOVA وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى معنوية5% واختبار دنكن متعدد الحدود DMRT

النتائج:

1-اختبار قدرة الأحياء الدقيقة في تثبيط نمو الفطر الممرض Fusarium solani على البندورة في الأصص

 الجاف للمجموع الجذري فأكثر العزلات البكتيرية التي زادت وزن الجذور F63 و C33 و K11 ولم تظهر فروق معنوية بينها وبين المعاملة بالميكوريزا الحويصلية VAM والشاهد السليم اما باقي المعاملات لم تبدي فروق معنوية مع الشاهد المعدى.

وبناءً على النتائج الموضحة سابقاً كانت أفضل العزلات البكتيرية في مكافحة النوع F.solani حقلياً كما زادت مؤشرات النمو للنباتات المعاملة بها (ارتفاع النبات، الوزن الجاف للمجموعين الجذري والخضري) هي العزلة C33 التابعة للنوع Bacillus cereus وكذلك الامر بالنسبة للعزلة RIZN التابعة لنوع Bacillus cereus ثبطت نمو الخيوط الفطرية حقلياً ولكنها لم تقم بزيادة مؤشرات النمو للنباتات المعاملة بها

2-تقدير النسبة المئوبة لاستعمار جذور نبات الذرة بفطر الميكوربزا وعدد الابواغ في اللقاح الميكوربزي

بلغ متوسط عدد أبواغ الميكوريزا الحويصلية الشجرية Vesicular arbuscular mycorrhiza VAM في اللقاح الميكوريزي المحضر 84 بوغ/100 غ لقاح (الجدول 3)، علماً أن اللقاح يحوي جذور نبات الذرة الصفراء المستعمرة بالميكوريزا والتربة المحيطة بها والتي تحوي الابواغ.

| وسه لنبات البندورة | مؤشرات النمو المدر | وزیادة F . $solar$ | في تتبيط الفطر ni | : تاثير المعاملات | الجدول (2) |
|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-------------------|------------|
| * . 2 | | | | | |

| نسبة الإصابة (%) | شدة المرض (%) | الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ) | الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ) | ارتفاع النبات (سم) | المعاملة |
|------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|
| 58.33 | 33.33 ^d | 1.57 ^d | 3.72° | 42.5° | شاهد معدی |
| 0 | O ^a | 3.025 ^{abcd} | 4.77 ^{abc} | 62 ^{ab} | شاهد سليم |
| 41.67 | 23.33 ^{bcd} | 2.05 ^{cd} | 4.32 ^{bc} | 52.5 ^{bc} | FU6*A12 |
| 25 | 10 ^{abc} | 2.3 ^{bcd} | 3.35° | 52.5 ^{bc} | FU6*B22 |
| 8.33 | 3.33 ^{ab} | 4.35 ^{ab} | 5.05 ^{abc} | 70 ^{ab} | FU6*C33 |
| 16.67 | 6.67 ^{abc} | 4.9 ^a | 4.75 ^{abc} | 63.25 ^{ab} | Fu6*F63 |
| 41.67 | 23.33 ^{bcd} | 2.42 ^{bcd} | 4.12 ^{bc} | 58.25 ^{bc} | FU6*I91 |
| 50 | 26.67 ^{cd} | 1.55 ^d | 4.12 ^{bc} | 56.75 ^{bc} | FU6*JO2 |
| 16.67 | 6.67 ^{abc} | 4.025 ^{abc} | 6.55 ^a | 76 ^a | FU6*K11 |
| 8.33 | 3.33 ^{ab} | 3.47 ^{abcd} | 5.1 ^{abc} | 57 ^{bc} | FU6*RIZN |
| 16.67 | 6.67 ^{abc} | 3.075 ^{abcd} | 6.05 ^{ab} | 69.75 ^{ab} | FU6* Trichoderma |
| 33.33 | 16.67 ^{abcd} | 4.4 ^{ab} | 4.22 ^{bc} | 57.25 ^{bc} | FU6* VAM |
| | 18.57 | 1.942 | 1.925 | 14.99 | LSD _{0.05} |

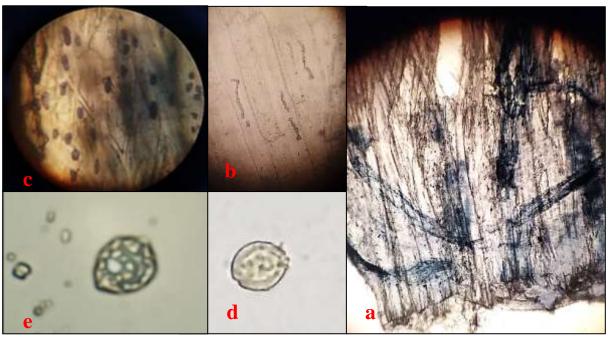
حيث أن: القيم التي يتبعها نفس الأحرف في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمالية 5%، كما يشير الرمز FU6 الى النوع البكتيري Pseudomonas flurescence والرموز A12, B22, C33, F63 وتشير الرموز Bacillus cereus الفطر الممرض J02, K11, RIZN الى الميكوريزا الحويصلية

كما تراوح عدد القطع الجذرية المستعمرة بالميكوريزا الحويصلية لجذور نبات الذرة الصفراء بين 15 قطعة في النبات رقم 7 ونسبة استعمار الجذور PRC قدرها 78%، وبالمتوسط = PRC% ونسبة استعمار الجذور PRC قدرها 78%، وبالمتوسط = \$51.5% (الجدول 3).

الجدول (3): عدد أبواغ الميكوريزا VAM في اللقاح الميكوريزي وعدد القطع الجذرية لنبات الذرة الصفراء المستعمرة ونسبة استعمار الجدول (7): عدد أبواغ الميكوريزا VAM في اللقاح الميكوريزي وعدد القطع الجذور PRC»

| المتوسط | | 6 | 5 | 5 | | 4 | 3 | 3 | | 2 | | 1 | رقم العينة | |
|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------------------|--|
| 84 | 9 | 5 | 8 | 4 | 6 | 8 | 9 | 1 | 9 | 3 | 7 | 3 | عدد الابواغ/100 غ لقاح | |
| المتوسط | 12 | 11 | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | رقم نبات الذرة | |
| 25.75 | 29 | 18 | 20 | 35 | 23 | 15 | 28 | 39 | 27 | 18 | 32 | 25 | عدد قطع الجذر المستعمرة | |
| 51.5 | 58 | 36 | 40 | 70 | 46 | 30 | 56 | 78 | 54 | 36 | 64 | 50 | نسبة الاستعمار (%) PRC | |

كما أظهرت نتائج الفحص المجهري للعينات المستخدمة في الدراسة أن فطر الميكوريزا يتبع للجنس .Glomus spp لوحظ وجود الحويصلات والتفرعات الشجرية في المقاطع التشريحية للجذور المتعايشة معها كما كان شكل الابواغ الموجودة في اللقاح الميكوريزي كروية أو بيضاوية ذات لون أصغر شاحب الى أصغر مائل للبني منفردة التوضع أبعادها 64.2-63.3×110.5-63.3 ميكرومتر، جدارها مكون من طبقتين، الطبقة الخارجية خشنة والطبقة الداخلية رفيعة شفافة، كما كانت الخيوط الفطرية رفيعة ومتفرعة بشكل غير منتظم كما هو موضح في الشكل (1)



الشكل (1) b.a: مقاطع تشريحية في جذور نبات الذرة الصفراء Zea mays باستخدام المجهر الضوئي (تكبير ×100) توضح تشكل الحويصلات المحويصلات داخل الخلايا، c: مقطع تشريحي في جذر نبات الذرة باستخدام المجهر الضوئي (تكبير ×400) يوضح شكل الحويصلات البيضاوية والتفرعات الشجرية للميكوريزا بين الخلايا، e:d أبواغ الميكوريزا الحويصلية VAM الجنس .Glomus spp التي تم عزلها من المحيط الجذري لنبات الذرة (تكبير ×600)

المناقشة:

أظهرت النباتات المعاملة به Pseudomonas fluorescens C33 تأخر في ظهور الأعراض ومعدل إصابة منخفض، كما زادت المعاملة بهذه البكتريا طول النبات والوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري مقارنة بالشاهد السليم، والذي يمكن أن يعزى إلى قدرة البكتريا على تحسين التغذية المعدنية للنبات وامتصاص المياه (Choudhary and Johri, 2009) وقد اتفقت نتائج تثبيط البكتريا C33 للذبول على نبات البندورة مع نتائج تقليل أعراض مرض الذبول على نبات البندورة الى انتاجها أنزيمات محللة المحدرضة للنبات وامتصاص المقاومة (Denton, 2007). او من خلال تحريض المقاومة (Verhagen et al., 2010).

كما أظهرت النتائج أن المعاملة بالعزلة البكتيرية Bacillus cereus K11 ، أدت إلى انخفاض شدة المرض (%)، وعززت من معايير النمو المدروسة (ارتفاع النبات، الوزن الجاف الخضري، والوزن الجاف الجذري) للبندورة، وهذا يتفق مع Ajilogba et al., معايير النمو المدروسة (ارتفاع النبات، الوزن الجاف الخضري، والوزن الجاف الخري) للبندورة، وهذا يتفق مع Bacillus cereus النبات التي تعزز مقاومة النبات للمرض (2013) مما شجع على استخدام بكتيريا Bacillus cereus التي تنتجها Bacillus cereus والتي يمكن أن تؤثر أيضاً على وتثبيطه (Gardener, 2004)

الميكروفلورا الموجودة في التربة المحيطة بالجذور او في منطقة انتشار الجذور، مما يوفر بيئة غير مناسبة لمسببات الأمراض، أو من خلال تتشيط استجابات دفاع المضيف (Garcia et al., 2012)

خفض الفطر تريكوديرما من شدة الإصابة بالفطر F. solani قد يعود ذلك الى التأسيس المبكر لفطر تريكوديرما وبالتالي الحد من مدى الضرر الذي يسببه الممرض، أو الى الاليات التي يتبعها فطر تريكوديرما في المكافحة وهي التطفل المباشر وذلك بالتفاف الخيوط الفطرية لفطر تريكوديرما حول خيوط الفطر الممرض (Howell,2003)، أو قد يعود الى قدرته على إفراز المضادات الحيوية وبعض الأنزيمات (Glucanases) التي تقوم بتكسير السكريات المتعددة (glucans ، chitin) المسؤولة عن صلابة جدار الخلية وبالتالي تحطيم الجدر الخلوية للفطر الممرض (Metcalf and Wilson,2001)، واتفقت هذه النتائج مع نتائج كل من Abeysinghe (2007). و Kumar) في قدرة فطر Trichoderma harzianum على تحفيز مؤشرات نمو نبات البندورة المدروسة، والذي أدى إلى نمو أفضل وحجم نبات أكبر وكان ذلك على مستوى المجموع الخضري والمجموع الجذري، ويعزى هذا التأثير لقدرة فطر تريكوديرما في إنتاج حمض الإندول الخلي LAA الذي يحفز نمو النبات او بسبب زيادة كمية منظمات النمو مثل الأكسينات والسيتوكينين والجبريلين التي تترافق مع زيادة نمو النبات (Cai et al., 2013).

انخفضت شدة المرض بـ Glomus spp. عند معاملة نبات البندورة بغطر الميكوريزا الحويصلية P. solani (الذي تم إكثاره من السماد الحيوي (Myco-Rise) مقارنة بالشاهد المعدى ولكن كان للفطر تريكوديرما تأثير أكبر في خفض شدة المرض وهذا يتفق مع نتائج بنتائج (Muhanna et al., 1997) وقد يعود السبب لقلة كمية الممرض الى استعمار الميكوريزا للجذور والتغير في شكل الجذر في منطقة الاستعمار الميكوريزي ومنافسة الفطر (Akkopru and Demir,2005) او من خلال تحسين تغذية النبات بالفوسفور (Akkopru and Demir,2005) كما أدت المعاملة بفطر الميكوريزا الشجرية الحويصلية (VAM) إلى تغذية النبات بالفوسفور والجذري للبندورة المصابة وتشير هذه النتائج ان فطريات الميكوريزا تزيد تحمل النبات للإصابة بالفطر زيادة نمو المجموع الخضري والجذري للبندورة المعابة الميكوريزا التي تتصل بالجذر وتزيد من سطح الامتصاص او من خلال الحفاظ على وظائف الجذر اما من خلال الخيوط الفطرية للميكوريزا التي تتصل بالجذر وتزيد من سطح الامتصاص او من خلال تغليف المتعمار الميكوريزا لجذور البندورة لذلك يمكن استخدام الذرة في تجارب إكثار اللقاح الميكوريزي باستخدام نبات الذرة لأنه يحفز على المتعمار الميكوريزي إلجذور البندورة لذلك يمكن استخدام الذرة في تجارب إكثار اللقاح الميكوريزي إذ بلغ متوسط عدد الابواغ في اللقاح الميكوريزي باستخدام نبات الذرة بين 300 و 78% وهذا يتقق مع نتائج (2016) إذ أستخدمت نباتات الذرة لتحضير اللقاح الميكوريزي بطبيعة جذور النبات العائل المظهرية والفيزيولوجية والظروف البيئية في التربة (Orats,2010)

الاستنتاجات:

سجلت العزلات البكتيرية المحلية والتي تم عزلها من المحيط الجذري لنبات البندورة ونبات النفل الأرجواني، قابلية عالية في تثبيط نمو الفطر الممرض F. solani، فضلاً عن تسجيلها زيادة معنوية في مؤشرات النمو المدروسة على نبات البندورة، مع تشابه فعاليتها مع فطر المكافحة الحيوية Trichoderma harzianum بصورة ملحوظة، أيضاً أظهرت النتائج إلى أن الزيادة الحاصلة في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري لنبات البندورة المعامل بهذه البكتيريا كانت زيادة في رفع كفاءة التمثيل الغذائي للنباتات وليست مجرد زبادة في امتصاص الماء.

المراجع:

- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2020). وازرة الزراعة والإصلاح الزراعي. مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء، دمشق، الجمهورية العربية السورية.
- رزق، أنطون، بشرى. (2014). أثر العوامل اللاإحيائية وفطر الميكوريزا على نمو فطر الفوزاريوم Fusarium oxysporum على البندورة في الزراعة المحمية. أطروحة ماجستير، كلية الزراعة، قسم وقاية النبات، جامعة تشربن.
- Abeysinghe, S. (2007). Biological control of *Fusarium solani*. Ruhuna Journal of Science. 2. pp. 82-88
- Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology 5th Ed. Academic press Inc. New York. p 922
- Ajilogba, F.C., Babalola, O.O. and Ahmad, A. (2013). Antagonistic Effects of *Bacillus* Species in Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. Ethno Med, 7(3), 205-216
- AKKopru, A. and S. Demir, (2005). Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* by AMF *Glomus interaradices* and some rhizobacteria. J. Phytopathol., 153: 544-550
- Alkhlif, R.A., Azmeh, M.F. and Abu Ghoura, M. (2023a). Resistance of some Tomato cultivars and rootstocks against Fusarium wilt pathogens. Damascus University Journal of agriculture sciences.(قُبل النشر)
- Alkhlif, R.A., Azmeh, M.F. and Abu Ghoura, M. (2023b). Antagonist capacity in vitro of local rhizobacterial isolates against *Fusarium solani* causing Tomato wilt. Damascus University Journal of agriculture sciences.(فُبل للنشر)
- Almagrabi, O.A., and T.S. Abdelmoneim. (2012). Using of *arbuscular mycorrhizal* fungi to reduce the deficiency effect of phosphorous fertilization on Maize plants (*Zea mays L.*). Life Science Journal, 4: 1684 -1694.
- Alsudani, A. A., & Raheem Lateef Al-Awsi, G. (2020). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. Pakistan journal of biological sciences .23(11), 1456–1461. https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1456.1461
- Atalla, S.M.M., Abdel-Kader, M.M., El-Gamal, N.G. and El-Mougy, N.S. (2020). Using maize wastes, fermented by co-cultures of *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas fluorescens*, as grain dressing against maize diseases under field conditions. Egypt J Biol Pest Control 30:37
- Bhattacharjee, R. and Dey, U. (2014). An overview of fungal and bacterial biopesticides to control plant pathogens disease. Afr J Microbiol Res 8(17):1749–1762
- Blaskowski, J. (2003). Species Descriptions and Illustrations. From http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/Species%20descriptions%20of%20AMF.html
- Cai, G., Gale, L.R., Schneider, R.W., Kristler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., et al., (2013). Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* at a site in California. Phytopathology. 93:1014-22.
- Cely, M.V.T., Siviero, M.A., Emiliano, J., Spago, F.R., Freitas, V.F. and Barazetti, A.R., Goya, E.T., de Souza, L.G., dos Santos, I.M.O., de Oliveira, A.G., Andrade, G. (2016). Inoculation of *Schizolobium parahyba* with mycorrhizal fungi and plant growthpromoting rhizobacteria increases wood yield under field conditions. Front Plant Sci 7:1708
- Choudhary, D. K., and Johri, B. N. (2009). Interactions of *Bacillus sp.* and plants With special reference to induced systemic resistance ISR. Microbiol. Res. 164, 493-513

- Denton, B. (2007). Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. Basic Biotechnology. 3. 1–5.
- Elkahoui, S., Djébali, N., Tabbene, O., Hadjbrahim, A., Mnasri, B., Mhamdi, R., Shaaban, M. and Limam, F. (2012). Evaluation of antifungal activity from *Bacillus* strains against *Rhizoctonia solani*. Afri J Biotechnol 11(18):4196–4201
- Garcia-Gutierrez, R.D., Zeriouh, H., Cazorla, F.M., Tores, J.A., de Vicente, A. and Perez-Garcia, A. (2012). Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. Plant and Soil. 358(1–2):201–212
- Gardener, B. B. M. (2004). Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus spp* in Agricultural systems. Phytopathol., 94,1252-1258.
- Hamed, E.R., Awad, H.M., Ghazi, E.A., El-Gamal, N.G. and Shehata, H.S. (2015). *Trichoderma asperellum* isolated from salinity soil using rice straw waste as biocontrol agent for cowpea plant pathogens. J App Pharm Sci 5:91–98
- Hassan Dar, G. H., Zargar, M. Y., & Beigh, G. M. (1997). Biocontrol of Fusarium root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris L*.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. Microbial Ecology, 34, 74-80.
- Howell, H.R., Harman, G.E., Viterbo, A., et al. (2003). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology. 2. 43-56.
- karthikeyan,B. and Sivasakthivelan,P.(2007). Biofertalizer technology. Department of Agricultural Microbiology. Faculty of Agriculture. Annamalai University,pp40
- Khrieba, I.M., Ghazal, I., Azmeh ,F.M., Choumane, W. and Zangeneh, S. (2013). Isolation and identifying Root Fungi (*Mycorrhiza*) symbiotic with tomato in the Syrian coast. Tishreen University journal for research and scientific studies-biological science series 35(8) 149-160
- Khrieba, I.M., Ghazal, I., Azmeh, F.M. and Choumane, W.(2016). Effect of Endomycorrhizal inoculum treatment on growth and production parameters in tomato plants. The Arab Journal For Arid Environment. 142-151
- Kumar A. (2019). Management of Fusarium wilt of tomato using *Trichoderma harzianum*. IJRAR.6(1).9-16
- Lugtenberg, B. J. J., and Kamilova, F. (2009). Plant growth promoting rhizobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 63, 541-556
- Metcalf, D. A., & Wilson, C. R. (2001). The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. Plant Pathology, 50(2), 249-257.
- Morgan, J.A., Bending, G.B. and Whilte, P.J. (2005). Biological costs and benefits to plant-microb interaction in the rhizosphere. J. ExP Bot. 56(417): 1729-1739.
- Muhanna, Naglaa A. S., Essa T. A., Manal A. H. El-Gamal and Kamel S. M. (2016). Efficacy of Free and Formulated *Arbuscular mycorrhiza*, *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on Controlling Tomato Root Rot Diseases. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 26(3), 477-486
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M. and Thonart, P. (2011). Beneficial effect of the rhizobacteria microbial community for Plant growth and health. Biotechnol.Agron. SOC. Environ.15 (2), 327-556.
- Orats, I. (2010). Effect of mycorrhiza application on plant growth and nutrient uptake in cucumber production under field conditions. Spanish Journal of Agricultural Research. 8. 116 122.
- Petatán Sagahón, I., Anducho-Reyes, M.A., Silva-Rojas, H.V., Arana-Cuenca, A., Tellez-Jurado, A., Cárdenas-Álvarez, I.O. and Mercado-Flores, Y. (2011). Isolation of bacteria with antifungal

- activity against the phytopathogenic fungi *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*. Int J Mol Sci. 12. 5522–5537
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S.(1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and *vesicular-arbuscular mycorrhizal* fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society. 157-160
- Qualhato, T.F., Lopes, F.A.C., Steindorff, A.S., Brandão, R.S., Jesuino, R.S.A. and Ulhoa, C.J. (2013). Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. Biotechnol Lett 9:1461–1468
- QUILAMBO, O. A. (2003). The *vesicular-arbuscular mycorrhizal* symbiosis. African Journal of Biotechnology. 539-546.
- Salami, O.A., Bankole, A.F. and Adepoju, O.P. (2018). Biocontrol Potentials of *Trichoderma Harzianum* and *Glomus Facultative* on *Fusarium Oxysporum* Causing Fusarium Wilt Disease of Tomato (*Lycopersicum Esculentum*). SciFed Journal of Mycology.1(3).1-11
- Verhagen, B.W.M., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Höfte, M. and Aziz, A. (2010). *Pseudomonas spp.* induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. Journal of Experimental Botany, 61: 249-260.
- Weller, D.M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soil borne pathogens: looking back over 30 years. Phytopathology 97:250–256.

Inhibition of *Fusarium solani* Causing Tomato Wilt Using Some Microorganisms

Reem Alkhlif * $^{(1)}$ (2), Mohammad Fawaz Azmeh $^{(2)}$, and Mahmoud abu Ghoura $^{(1)}$

- (1). Plant Protection department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.
- (2). National Commission for biotechnology, SYRIA

(*Corresponding author: Reem Alkhlif, Email reem.alkhlif@damascusuniversity.edu.sy)

Received: 7/07/2023 Accepted: 13/08/2023

Abstract

The research was conducted in the greenhouse of Syrian National Commission for Biotechnology in Damascus during the 2021-2022 season, with the aim of studying the effect of Vesicular arbuscular mycorrhiza VAM Glomus spp. and Trichoderma harzianum fungi and bacterial isolates, which were isolated from the rhizosphere of Tomato plants and Trifolium purpureum, for controlling the effect of Fusarium solani that causes Tomato wilt, in planta. Bacterial isolates of Pseudomonas fluorescens and Bacillus cereus were identified according to several biochemical tests. Comparisons made between treatments were based on the dry weight of shoots and roots of treated and control plants, plant length, disease severity (%) according to the approved scale, and infection rate (%). The best isolates in controlling F.solani were the two isolates C33 and F63 related to Pseudomonas fluorescens with disease severity of 3.33 and 6.67% respectively, and increasing parameters of plants growth (plant height 70 and 63.25 cm, dry plant weight 5.05 and 4.75 g, dry root weight 4.35 and 4.9 g, respectively). In addition, the isolate K11 related to Bacillus cereus gave similar efficiency in disease control and growth parameters with a disease severity 6.67%, plant height 76 cm, dry plant weight 6.55 g, dry root weight 4.025 g. There were no significant differences between the results of the above mentioned parameters with plants treated with *Trichoderma* where results showed disease severity of 6.67%, plant height 69.75 cm, dry plant weight 6.05 g and dry root weight of 3.075 g. While, the isolate RIZN of *B. cereus* suppressed infection with the pathogen where disease severity became 3.33%, but it did not effect growth parameters. The greatest increase in dry weight of the roots was observed when plants were treated with the bacterial isolate F63, neither treatment with this isolate nor treatment with VAM revealed significant differences in dry weight when compared with the healthy control of the roots giving the following results 4.9, 4.4, and 3.25 g, respectively.

Keywords: Fusarium solani, Bacillus cereus, Pseudomonas fluorescens, Trichoderma harzianum, Vesicular arbuscular mycorrhiza, Syria.