

## دراسة تأثير بعض الأحياء الدقيقة في مكافحة الحيوية لمرض ذبول البندورة الفيوزارمي *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* تحت ظروف المختبر

بشار الدخيل\* (1)

(1). قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حلب، حلب، سورية.  
(للمراسلة: د. بشار الدخيل. البريد الإلكتروني: [bashardakhel6@gmail.com](mailto:bashardakhel6@gmail.com)).

تاريخ القبول: 2020/01/6

تاريخ الاستلام: 2019/12/15

### الملخص

تعد البندورة من أهم محاصيل الخضر وتصاب بالعديد من الممرضات وأهمها *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. وتعد مكافحة الحيوية أحد أهم عناصر مكونات المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية IPM، حيث تم في هذا البحث دراسة تأثير عزلات بكتيرية مختلفة تتبع الأجناس *Bacillus*، *Pseudomonas* وعزلات مختلفة لفطر *Trichoderma harzianum* ذات التضاد الحيوي. وتحديد العزلات الأكثر فعالية في تخفيض النمو الشعاعي لمرض ذبول البندورة الوعائي المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. نفذت التجربة في مخابر كلية الزراعة بجامعة حلب عام 2012 وفق التصميم التام العشوائية بواقع 5 مكررات لكل عزلة مختبرة، بالإضافة لمعاملة الشاهد. حيث تم دراسة القدرة التضادية للعزلات البكتيرية المختلفة إزاء الفطر الممرض في الأوساط الغذائية، ونفذت التجربة بالطريقة ذاتها لاختبار القدرة التضادية للفطر *T. harzianum*. تمت مراقبة نمو كلاً من مستعمرات التريكوثيرما والفيوزاريوم، حيث تم أخذ قراءات قياس متوسط قطر مستعمرة الفيوزاريوم في كل مكرر من مكررات الشاهد بقياس منطقة الإعاقة. أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مقارنة المتوسطات لقطر المستعمرة الفطرية للمعاملات المختلفة مقارنة بالشاهد، كما أظهرت النتائج وجود فروق عالية المعنوية بين المعاملات من حيث متوسط طول منطقة الإعاقة، حيث بلغت أعلى قيمة (8.8) سم عند استخدام العزلة (3 *Pseudomonas*) في حين كانت أدنى قيمة عند استخدام العزلة (2 *Pseudomonas*) (1.29 سم)، وعند دراسة تأثير المعاملات المختلفة للعزلات البكتيرية المختلفة والفطر *T. harzianum*، أظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملات T2، وT2 PS3، وbas1 PS3، والشاهد، في حين لم تكن هناك فروقاً معنوية بين المعاملات PS، وbas1، وPS3 T2، وbas1 T2، ومعاملة الشاهد المصاب، مما يجعلها طريقة واعدة في مكافحة هذا الممرض.

الكلمات المفتاحية: *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*، مكافحة أحيائية، *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Trichoderma harzianum*.

### المقدمة:

تعد البندورة من أهم محاصيل الخضر من الناحية الاقتصادية في معظم دول العالم، ويوافق المناخ السائد في سورية احتياجات هذا المحصول البيئية، لكن إنتاج البندورة يتعرض لنقص واضح في الفترة الواقعة بين تشرين أول ومنتصف نيسان بسبب انخفاض درجات الحرارة، وتعد مكافحة الحيوية أحد أهم عناصر مكونات المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية IPM، حيث تستخدم مكافحة الحيوية لممرضات النبات بشكل مباشر أو غير مباشر باستخدام كائنات حية دقيقة، مما يحدّ من هذه الممرضات. ويمكن القول أن مكافحة

الحيوية تهدف إلى خفض كثافة اللقاح المعدي، وإعاقة نشاط الممرض أو الطفيل، سواء كان في مرحلة النشاط أو السكون (Clarkson et al., 1997). تتم عملية التطفل طبيعياً بواسطة واحد أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة، أو من خلال التفاعل مع وسط الانتشار بالإدخال الكمي لواحد أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة، أو تطويع الوسط البيولوجي بما يسمح بإتاحة الظروف المؤدية لإنقاص الخسائر (D-rolen et al., 1998).

قد تحتاج مكافحة الحيوية المعتمدة على استخدام بعض الكائنات الحية المنفردة إلى معاملات إضافية أخرى، مثل: تحويل ظروف التربة فيزيائياً (التشميس)، أو بمعاملة التربة والبذور بمبيد فطري كيميائي. فقد أثبتت التجارب أن معاملة الفطر *Trichogramma harzianum* مرتبطة بالمبيد الفطري خماسي كلور نثرو بنزين PCNB على الباذنجان لمكافحة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* وقد أعطت نتائج جيدة (Larkin et al., 1997).

تشكل ظاهره التضاد الحيوي أقوى العوامل التي تسبب تثبيط أو القضاء على وحدات اللقاح لممرضات النبات الكامنة بالتربة، حيث توقف إنبات الأبواغ. تقوم الكائنات الحية الدقيقة بعملية التثبيط الكيميائي لنشاطات الممرض بما تنتجه من مضادات حيوية سامة ناتجة عن الاستقلاب الغذائي، أو توكسينات خاصة كتلك التي يطلق عليها الترياقات البكتيرية *bactellocins* ولا يتوقف دور هذه المواد فقط على منع إنبات الأبواغ، بل يتسبب أيضاً في إيقاف النمو الخضري وتخريب الميسليوم للممرض الفطري (Larkin and Fravel, 1998). إلا أن تأثيرات التضاد الحيوي تتخفف بإعاقة غرويات التربة، وبالتثبيط الحيوي والكيميائي، وينمو صفة المقاومة لدى العائل أو بالإنتاج غير الفعال للمضادات لكائنات مكافحة الحيوية (Larkin and Fravel 1999a).

تنتج البكتيريا الوميضة (الفلورستينية) عناصر هامة لمكافحة الحيوية لممرضات النبات، حيث تنتج مضادات حيوية مثل *Tropolore* التي تعيق وتقتل عدداً كبيراً من البكتيريا الممرضة، كما أنّ لها القدرة على التخريب السريع للمستعمرات الفطرية الموجودة في التربة. وقد بينت دراسات بأن الأبواغ الساكنة للفطر *Trichoderma harzianum* تهاجم ميسليوم العديد من فطور التربة مثل *Rhizoctonia* و *Scleroinia* و *Pythium* و *Phytophthora*، حيث تتطفل على تلك الفطريات الممرضة أو تحللها (Larkin and Fravel 1999b). وتم الحصول على نتائج جيدة عند استخدام *Trichoderma* في مكافحة عفن الساق والجذور والبذور في الذرة الصفراء والبيضاء التي تسببها الفطريات *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium moniliforme*. وكذلك في مكافحة *Botrytis cinerea* على الفريز، وفي تقليل الأعراض التي يسببها *Verticillium* و *F. oxysporum* وخاصة *F. oxysporu f.sp. lycopersici* على البندورة في الزراعة المحمية (Larkin et al., 1999).

يتميز النوع *T. harzianum* بكفاءته العالية في التطفل على الفطريات الممرضة للجذور ويعد عنصراً هاماً لمكافحة الحيوية لبعض الممرضات الفطرية *F. oxysporum*, *F. solani*, *A. raphani*, *S. rolfsii*, *R. solani*. وأثناء طفله يلتف الفطر حول عائله مخترقاً هيئاته وتراكيبه الساكنة، من خلال ثقب العائل تتشكل عن إفراز الطفيل لأنزيمي الكيتينيز و *glucanase* 1.3 (Larkin and Fravel, 1993).

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير عزلات بكتيرية مختلفة تتبع الأجناس *Bacillus*, *Pseudomonas* وعزلات مختلفة لفطر *Trichoderma harzianum* ذات التضاد الحيوي. وتحديد العزلات الأكثر فعالية في تخفيض النمو الشعاعي لمرض ذبول البندورة الوعائي المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*.

مواد البحث وطرائقه:

## 1. العزلات:

تم الحصول على الفطر المسبب لذبول البندورة *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* وعدة عزلات من بكتريا *Bacillus subtilis* (bas1, bas12 and bas23) وعزلات البكتريا *Pseudomonas fluorescens* (PS1,PS2,PS3) وعزلتين من الفطر *Trichoderma harzianum* (T1,T2) من مخبر أمراض النبات بقسم وقاية النبات، كلية الزراعة بجامعة حلب عام 2012.

## 2. التجربة المخبرية:

### 1-2. اختبار القدرة التضادية للعزلات البكتيرية المختلفة:

أخذت قطعة من العامل الممرض (الفطر) بواسطة ثاقب فليبي قطره (5 ملم) ووضعت على بيئة PDA على بعد 1 سم من حافة الطبق. لاحت الأطباق بالعزلات البكتيرية المختبرة بواسطة إبرة تلقيح بشكل خط مستقيم على بعد 1 سم من حافة الطبق وذلك في الطرف المقابل لمكان وضع الفطر، مع مراعاة ترك عدة أطباق بدون تلقيح بالبكتريا كشاهد. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1 س. أخذت القراءة بعد 8-10 أيام من التحضين، عندما وصل نمو مستعمرة العامل الممرض إلى الخط الوهمي الذي تم تحديده بواسطة إبرة التلقيح بعد تعقيمها على اللهب.

كما نفذت التجربة بالطريقة ذاتها لاختبار القدرة التضادية للفطر *T. harzianum*. وتم مراقبة نمو كلاً من مستعمرات التريكوثيرما والفيوزاريوم منذ اليوم الرابع للتحضين، حيث لوحظ تناقص قطر مستعمرة العامل الممرض مع مرور الزمن.

نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية بواقع 5 مكررات لكل عزلة مختبرة بالإضافة لمعاملة الشاهد، حيث تم أخذ قراءات قياس متوسط قطر مستعمرة الفيوزاريوم في كل مكرر من مكررات الشاهد وفق التالي:

القطر الكبير للمستعمرة + القطر الصغير للمستعمرة

2

وتم حساب متوسط قطر مستعمرة الفيوزاريوم في كل مكررات الشاهد وفق التالي:

مجموع أقطار المستعمرات في مكررات الشاهد الخمسة

5

قياس منطقة الإعاقة (المسافة الخالية من النمو الفطري للعامل الممرض والفاصلة بين مستعمرة الفيوزاريوم وخط النمو البكتيري)، وتم ذلك لكافة المكررات ولكافة العزلات البكتيرية، ثم تم حساب متوسط منطقة الإعاقة لكل عزلة بكتيرية وذلك وفق:

مجموع منطقة الإعاقة للمكررات الخمسة

5

قياس متوسط قطر مستعمرة الفيوزاريوم في كل مكرر من المعاملات (العزلات) وفق:

القطر الكبير للمستعمرة+القطر الصغير للمستعمرة

2

حساب نسبة الإعاقة (منع النمو):

تعتبر مستعمرة الشاهد 100% ثم تنسب إليها أقطار المستعمرات الفطرية المرافقة للعزلات حيث:

% قطر المستعمرة الفطرية مقارنة مع الشاهد = متوسط قطر المستعمرة لكل معاملة  $\times 100$   
متوسط قطر المستعمرة في الشاهد

حيث تم قياس قطر المستعمرات باستخدام المسطرة

حساب نسبة التعطيل: نسبة التعطيل =  $100 - \% \text{ قطر المستعمرة الفطرية}$ .

التحليل الإحصائي:

حُلَّت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstate12 بالاعتماد على جدول تحليل التباين ANOVA واختبار LSD (أقل فرق معنوي) عند مستوى معنوية 0.01.

النتائج والمناقشة:

### 1. تأثير العزلات المختلفة في نمو مستعمرة *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

تظهر النتائج (الجدول 1) وجود فروق معنوية بين المعاملات ( $p = 0.006$ ) وذلك عند مقارنة المتوسطات لقطر المستعمرة الفطرية للمعاملات المختلفة مقارنة بالشاهد، عدا المعاملة PS2، كما كانت هناك فروقاً معنوية بين المعاملات المختلفة في كفاءة التثبيط. حيث أظهرت المعاملة bas1 والمعاملة bas 12 فروقاً معنوية بينهما وبين المعاملة PS2 إضافة إلى معاملة الشاهد، حيث بلغ متوسط قطر التثبيط 5.2 و 5.9 سم على التوالي. في حين لم تكن هناك فروقاً معنوية بين باقي المعاملات PS1، PS3، bas 23، PS3، bas 1.

الجدول 1. متوسط قطر التثبيط (سم) للمعاملات المختلفة

المعاملات	الشاهد	PS2	PS1	bas 23	PS 3	bas 12	bas 1
متوسط قطر التثبيط / سم	5.9 a	5.2 a.b	4.7 b.c	4.7 b.c	4.3 b.c	3.7 c	c 3.6

$LSD_{0.01} = 1.2$  تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية

كما تظهر النتائج (الجدول 2) وجود فروق عالية المعنوية بين المعاملات ( $p < 0.0001$ ) بالنسبة لصفة متوسط طول منطقة الإعاقة. حيث بلغت أعلى قيمة (8.8 سم) عند استخدام العزلة PS3 في حين كانت أدنى قيمة عند استخدام العزلة PS2 (1.29 سم).

الجدول 2. متوسط طول منطقة الإعاقة (سم) للمعاملات المختلفة

المعاملة	الشاهد	PS 3	bas 23	bas 1	bas12	PS 1	PS 2
متوسط طول منطقة الإعاقة / سم	0.0 g	8.8 a	8.05 b	7.4 c	4.04 d	3.0 e	1.29 f

$LSD_{0.01} = 0.3$  تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية

### 2. تأثير المعاملات المختلفة للعزلات البكتيرية المختلفة والفطر *T. harzianum* في متوسط طول التلون:

تظهر نتائج تحليل التباين ANOVA (الجدول 3) وجود فروق معنوية بين المعاملات المختبرة ( $p = 0.0036$ ) والشاهد السليم فقط، وجميع المعاملات المختبرة بما فيها معاملة الشاهد المصاب، حيث تراوحت القيم بين 1.62 سم للمعاملة PS3 و 3.24 سم لمعاملة الشاهد المصاب.

الجدول 3. متوسط طول التلون (سم) للمعاملات المختلفة للعزلات البكتيرية المختلفة والفطر *T. harzianum*

المعاملة	الشاهد المصاب	الشاهد السليم	bas PS3 T2	T2	bas1 T2	bas 1	bas1 PS 3	PS3 T2	PS3
متوسط طول	3.24 a	0 b	3 a	2.72 a	2.64a	2.58 a	2.54 a	2.04 b	1.62 a

									التلون/اسم
--	--	--	--	--	--	--	--	--	------------

2.1= LSD<sub>0.01</sub> تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروق معنوية

تتوافق النتائج التي تم الحصول عليها مع ذكره (Zaidi et al., (2014) حول دور *Trichoderma* في تثبيط نمو الفيوزاريوم ومتوسط طول التلونات. وتتوافق أيضاً مع نتائج (Sundaramoorthy and Balabaskar, (2012) كما تتوافق مع نتائج Ben Abdallah et al., (2015) في التثبيط ومستوى الإعاقة في نمو مستعرات الفيوزاريوم مما يجعلها طريقة واعدة في مكافحة هذا المرض.

#### الاستنتاجات:

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة، يمكن التوصية بإجراء دراسات للحفاظ على الفطر *T. harzianum* لاستخدامه في برامج مكافحة الحيوية، كما توصي نتائج الدراسة بالتوسع في إجراء دراسات للعزلات البكتيرية والفطرية وتحديد المنتجات الاستقلابية التي تفرزها البكتريا والفطريات ذات التضاد الحيوي، والتعمق في دراسة آلية تأثيرها في الممرضات.

#### المراجع:

- Arkson, J.P.; and J.A. Lucas (1997). The role of antibiotic production by a strain of *pseudomonas fluorescens* in the suppression of *pseudocercospora herpotrichides*, the causal agent of eyes pot disease of cereals. *Journal of Applied-Microbiology*. 82(4):499-509.
- Ben Abdallah, R.A.; H. Jabnoun-Khiareddine; S. Mokni-Tlili; A. Nefzi; S. Medimagh-Saidana; and M. Daamiremadi (2015). Endophytic *Bacillus spp.* from wild solanaceae and their antifungal potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* elucidated using whole cells, filtrate cultures and organic extracts. *J. Plant. Pathol. Microbiol.*
- Larkin, R.P.; and D.R. Fravel (1997). Efficacy of biological control of *Fusarium* wilt of tomato under varying environmental conditions. *Phytopathology*. 87: S56.
- Larkin, R.P.; and D.R. Fravel (1999a). Field efficacy of selected nonpathogenic *Fusarium spp.* and other biocontrol agents for the control of *Fusarium* wilt of tomato. *Biol. Cultural Tests*. 14:116.
- Larkin, R.P.; D.L. Hopkins; and F.N. Martin (1993). Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soils suppressive and conducive to *Fusarium* wilt of watermelon. *Phytopathology*. 83:1105-1116.
- Larkin, R.P.; D.R. Fravel (1998). Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Dis.*, 82:1022-1028.
- Larkin, R.P.; D.R. Fravel; and K.L. Everts (1999). Field efficacy of selected nonpathogenic *Fusarium spp.* and other biocontrol agents for the control of *Fusarium* wilt of muskmelon. *Biol. Cultural Tests*. 14:160.
- Rolen, D.; P. Nipoti; L.E. Finessi; and D. Manzali (1998). Review of several years of research in Italy on the biological control of soil Fungi with *Trichoderma ssp.* *Bulletin*. 18(1):95-102.
- Sundaramoorthy, S.; and P. Balabaskar (2012). Biocontrol efficacy of *Trichoderma spp.* against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 1 (03):036-040.
- Zaidi, S.; M.M. Senoussi; A. Oufroukh; and W. Harrat (2014). The effect of *in vitro* and *in vivo* *Trichoderma Sp* (TR2) on the reduction of infection of the tomato variety (Elgon) contaminated with *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici*. *World Journal of Environmental Biosciences*. 7(4): 112-118.



## Study the Effect of Some Microorganisms in Biocontrol of *Fusarium* Tomatoes Wilting (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) under Lab Conditions

Bachar Aldakil<sup>\*(1)</sup>

(1). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Aleppo University, Aleppo, Syria.

(\*Corresponding author: Dr. Bachar Aldakil. E-Mail: [bashardakhel6@gmail.com](mailto:bashardakhel6@gmail.com)).

Received: 15/12/2019

Accepted: 6/01/2020

### Abstract

Tomato is one of the most important vegetable crops and it is infected with many pathogens, and the most important one is *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Biocontrol is one of the most important components of IPM. This research studied the effect of different bacterial isolates of *Bacillus*, *Pseudomonas* and different isolates of fungus *Trichoderma harzianum* to identify the most effective isolates in reducing the radial growth of vascular tomato wilt caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. The experiment was carried out at Faculty of Agriculture Labs, Aleppo University, in 2012, according to complete randomized design CRD with 5 replicates for each isolate in addition to the control treatment. Measurements of the average diameter of the *Fusarium* colony was taken in each replication of the control area. The results showed significant differences between treatments when comparing the average colony diameter of different treatments with the control. The highest value was (8 cm) when using isolation PS3 while the lowest value when using isolation was (PS2 = 1.29 cm). T2, bas1 PS 3 and the control while there were no significant differences between PS, bas1, PS3, T2, T1, and bas1 and control treatment, which make it a promising method in controlling this pathogen.

**Keywords:** *F.oxysporu* f.sp.*lycopersici*, Biocontrol, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma harzianum*.