عزل وتشخيص الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* وتحديد دورهما في مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا واختبار القابلية التضادية لبعض عوامل المكافحة الإحيائية ضدهما تحت الظروف المختبرية

عهد عبد علي هادي مطلوب كـــامل سلمـــان جبر
جامعة بغداد – كلية الزراعة – قسم وقاية النبات

الملخص

هدف هذا البحث الى عزل وتشخيص الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* وتحديد دورهما في مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا واختبار المقدرة التضادية لبعض عوامل المكافحة الإحيائية ضده تحت الظروف المختبرية.أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *F. solani* في معظم العينات وبنسبة ظهور ١٤-٦٥% ، وظهور الفطر *F.sulphureum* في ٣ مناطق وبنسبة ١.٢٥- ١٥.٣٩ % . شخص الفطرين الى مستوى الجنس والنـوع أعتمـاداً على صفاتـهما المزرعية والمظهرية. بينت نتائج الاختبار الأولي للمقدرة الأمراضية لعزلات الفطرين ان جميع العزلات كانت ممرضة و أختلفت العزلات بمقدرتها الأمراضية بتأثيرهـا علـى نسبـة انبـات بذور اللهانة ، اذ منعت العزلاتFS-1-2 ، FS-2-2،FS-7-1،FS-8، Fsul-3، FS-2-3 أنبات البذور بالكامل ،في حين كانت نسبة الإنبات في معاملة المقارنة ٩٣.٣٣ % .كما أوضحت النتائج تأثير العزلات الممرضة على نسبة انبات بذور الفاصوليا اذ تراوحت نسب الانبات فيها بين 0.0-٧٠.٠% مقارنة بمعاملة المقارنة بدون فطر ممرض التي كانت بين 0.٦٥-٨٧,٥% ،(اليوم الخامس – الثامن)كما احدث الفطرين تأثيرا سلبيا في نمو بادرات الفاصوليا بزيادة نسبة وشدة الإصابة. أوضحت النتائج ان البكتريا *Azotobacter chroococcum* سببت خفضا معنويا في معدل نمو الفطرين الممرضين بنسبة تثبيط تراوحت بين ٤٦.٣-٧٦.٩%.وحقق الفطر *Trichoderma harzianium* سيطرة كاملة على نمو الفطرين الممرضين بتثبيط نموهما على الوسط الزرعي PSA.

Isolation and Identification of *Fusarium solani* and *F.sulphureum* and determination their role in Bean stalk and root rot Disease and test Antagonistic ability of some bioagents against them under Laboratory conditions

Ahed Abd Ali Hadi Matloob* Kamil Salman Juber
Agriculture college ,Baghdad Uni.,Plant protection Dep.

Abstract

The results of isolation and Identification showed that *Fusarium solani* fungus is presented in the most samples in rate 14-65%. and *F.sulphureum* was present in three districts in rate 1.25-15.39%, This first registration of *F.sulphureum* fungus on bean in Iraq, they were identified up to the genus and species level. The test of pathogencity showed that isolates were different on their effect on cabbage seed germination percentage, the isolates FS-1-2, FS-2-2 ،FS-7-1، FS-8، Fsul-3، FS-2-3 prevented seeds germination, compared to the control 93.33 % . Results showed influence of the pathogenic isolates on bean seed germination percentage, it was in fifth-eighth day between 0.0-70.0% compared with treatment without pathogen which was 65-87,5%. The both fungi caused significant reduction in bean growth by increase percentage of disease incidence and severity. the biocontrol agent *Azotobacter chroococcum* bacteria caused significant inhibition in growth rate of *Fusarium solani* and *F.sulphureum* that was 46.3-76.9%.*T.harzianums* fungus had highly antagonistic ability against of pathogenic isolate of fungi on PSA medium.

المقدمة

يسبب تعفن جذور وقواعد السيقان الفاصوليا الفيوزارمي خسائر على المحصول تقدر بأكثر من ٨٤% (٣٢،٧) تظهر الأعراض على هيئة تخطط ضيق طويل احمر الى بني على الفلق ويتحول الجذر الرئيسي الوتدي والجذور الثانوية الى اللون البني الداكن وقد يتشقق الجذر طوليا، بعد ذلك قد يذبل النبات ويموت ،أحيانا تتكون عناقيد جذور ليفية فوق الجذر الرئيسي الذابل، هذه ربما تبقي النبات حيا تحت الظروف المثالية، كما يمكن ملاحظة القليل من الأعراض التي تظهر على النبات فوق سطح التربة .إذ يظهر النبات متقزما وذو لون شاحب وينمو بشكل أبطا من النبات السليم وذو انتصابه غير مستوية(٢،١٨) اتجهت جهود معظم الباحثين في الوقت الحاضر إلى استعمال مختلف الطرق الممكنة للحد اوالتقليل من استعمال المبيدات الكيميائية والأضرار الناجمة عنها كاستخدام العوامل الإحيائية كحل عملي وأمين للسيطرة على الأمراض خاصة أمراض تعفن الجذور (٤، ٦، ١٧، ١٨، ٢٢) ومن الأحياء المستعملة وعلى نطاق واسع في الوقت الحاضر هو الفطر الإحيائي *Trichoderma harzianum* ،ومن بين فعاليات الفطر عملية التطفل الفطري (Mycoparasitism) والتي تحدد نمو وفعالية الفطريات الممرضة للنبات ، وله القابلية على انتاج المضادات الحيوية والتي تؤثر بشكل سلبي على نمو المسببات المرضية (٢١، ٣١) . كما ينتج الفطر وبسبب طبيعته التطفلية انواع متعددة من الانزيمات المحللة لمكونات جدران وخلايا عوائله (١٣، ٢٠) . بالإضافة إلى منافسته للمسببات المرضية على المكان والغذاء وتأثيراته الايجابية في نمو النبات. ،كما عرف التأثير الكبير والفعال للبكتريا*Azotobacter chroococcum* ضد العديد من المسببات المرضية. إن إنتاج المضادات الحيوية من هذه البكتريا يعد من الاليات الأكثر قبولاً في السيطرة على المسببات المرضية إضافة لإنتاجها عددا من الأنزيمات والمركبات الأخرى المثبطة للفطريات ومنافسة الممرضات كما انها من البكتريا المحفزة لنمو النبات (Plant Growth promoting Rhizobecteria (PGPR والمعروف كفاءتها العالية في تثبيت النتروجين (١٥،٥ ،١٧ ،٢٣ ،٢٤، ٢٥،٢٧ ،٣٩) . ونظرا لقلة الدراسات حول مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا ومحاولة ايجاد بعض العوامل الإحيائية في مكافحته هدف البحث الى مسح المرض وعزل وتشخيص مسببة واختبار المقدرة التضادية لبعض عوامل المكافحة الإحيائية ضده تحت الظروف المختبرية.

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

جلبت النباتات التي ظهرت عليها أعراض الإصابة من لعينات التي اخذت بصورة عشوائية من الحقول التي شملها البحث في محافظة بابل (١) الى المختبر وأخذت أجزاء من الجذور وقواعد السيقان التي ظهرت عليها أعراض التعفن والتقرحات وغسلت بالماء الجاري لمدة ٣٠ دقيقة وقطعت إلى أجزاء صغيرة بطول ٠.٥ سم وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم (٠.٥% كلور حر)لمدة ٣ دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة ٢ دقيقة ونشفت بورق الترشيح المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع ٤ قطع نباتية في كل طبق بتري قطر ٩ سم حاوٍ على ١٥-٢٠ سم٣ من الوسط الزرعي اكر السكروز والبطاطا Potato Sucrose Agar (PSA)(٢٠٠ غم بطاطا ،١٠ غم سكروز،٢٠غم اكر،١ لتر ماء مقطر) المضاف إلية المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز ٢٠٠ ملغم / لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (١٢١ م° وضغط ١.٥ كغم/سم٢)لمدة ١٥ دقيقة ، حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 م° لمدة ٣ أيام وبعدها تم إجراء الفحص للتحري عن وجود الفطر *Fusarium* وإحصاءه وتنقيته بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوٍ على الوسط الزرعي PSA حضنت الأطباق لمدة ٤ أيام وبعدها تم حفظ العزلات في انابيب اختبار حاوية على تربة معقمة او بذور دخن محلية معقمة.

تشخيص الفطر*Fusarium solani* و *F.sulphureum*

شخص الفطرين*Fusarium solani* و *F.sulphureum* بعد ظهور النموات الفطرية وذلك بالاعتماد على الصفات التصنيفية التي ذكرها (١٠)

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* .

- الكشف عن العزلات الممرضة للفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* باستعمال بذور اللهانة

تم اختبار المقدرة الامراضية ل١٤ عزلة من الفطر *F . solani* و٣ عزلات من الفطر *F.sulphureum* التي تم الحصول عليها من خلال العزل حـــسب طريقة Bolkan و Butler (٩) حيث حضرت أطباق بتري قطرها 9 سم تحوي على 15 – 20 مل من الوسط الزرعي الاكر والماء Water Agar (20 غم اكر ، 1 لتر ماء مقطر) المعقم بجهاز المؤصدة لمدة 15 دقيقة والمضاف له المضاد الحيوي وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الاطباق في مركزها بقرص قطر 0.5 سم من مزارع الفطرين*Fusarium solani* و *F.sulphureum* المنماة على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 أيام كل على انفراد حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 م° ولمدة 3 ثلاثة أيام، بعدها زرعت بذور لهانة محلية معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (كما مذكور سابقا) وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل ٢٥ بذرة / طبق.استعملت 3 أطباق لكل عزلة كمكررات إضافة إلى معاملة

المقارنة بدون الفطر، وضعت الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25±1 م° . أخذت النتائج بعد 7 أيام وذلك بحساب نسبة الإنبات حسب المعادلة الآتية :

النسبة المئوية للإنبات= (عدد البذور النابتة / عدد البذور الكلي) × 100

- تاثير الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* في انبات بذور الفاصوليا ونباتاتها

تم تنفيذ هذة التجربة في مختبرات الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور/ بغداد، أبو غريب ، اذ انتخبت ٥ عزلات ممرضة من الفطر *Fusarium solani* وعزلتان ممرضتان من الفطر *F.sulphureum* وأضيف القاح الفطري المحمل على بذور الدخن المحلي الى ترب مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل والموزعة في أصص بلاستيكية قطر ١٢.٥ سم وبمعدل ١ كغم تربة / أصيص وبنسبة ١%(وزن / وزن) زرعت التربة بعشرة بذور فاصوليا محلية معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم، كررت كل معاملة ٤ مرات وكذلك تركت ٤ مكررات بدون إضافة الفطر الممرض كمقارنة سقيت الأصص باحتراس وغطيت بأكياس بولي اثيلين مثقبة ووضعت بالحاضنة مدة ٣ أيام ومع بزوغ البادرات في معاملة المقارنة أزيلت الأكياس ونقلت الأصص إلى غرفة النمو في درجة حرارة 25±٢ م° وإضاءة ١٢ ساعة يوميا ، حسبت نسبة الإنبات بعد ٤ أيام من الزراعة ولمدة ٤ أيام متتالية لحين اكتمال إنبات بذور معاملة المقارنة ، كما حسبت نسبة وشدة الإصابة بعد ٤ اسابيع من الزراعة للمعاملات التي ظهرت فيها بادرات وكما يلي:

النسبة المئوية للإصابة = (عدد النباتات المصابة / عدد النباتات المفحوصة) ×١٠٠

وتم تقدير شدة الإصابة على المجموع الخضري باستعمال الدليل المرضي المكون من ٥ درجات ،كما يلي:٠ = لاتوجد اعراض مرضية.١ = ١ – ١٠% من الفلقة تظهر عليها تلون بني مع عدم ظهور تقزم واضح للمجموع الخضري.٢= ١١ – ٢٥% من الفلقة تظهر عليها الاعراض مع تقزم قليل. ٣= ٢٦ – ٥٠% من الفلقة تظهر عليها الاعراض مع تقزم متوسط للمجموع الخضري. ٤= تلون اكثر من٥٠% للفلقة وبلون داكن مع ظهور تقزم شديد للمجموع الخضري .و٥= موت النبات.

وقد حسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلةMckinney (٣٠) وكما يلي:

% شدة الاصابة = [(عدد النباتات في الدرجة ٠×٠) + (عدد النباتات في الدرجة ١×١) + ...+ (عدد النباتات في الدرجة ٥×٥)] / (مجموع النباتات المفحوصة × ٥) ×١٠٠

كما حسبت شدة الإصابة للمجموع الجذري وفق الدليل المرضي المكون من ٥ درجات وكما يلي: ٠= جذور سليمة. ١= تلون(تعفن) الجذور الثانوية . ٢= تلون الجذور الثانوية وجزء من الجذر الرئيسي. ٣= تلون الجذر الرئيسي دون تلون قاعدة الساق. ٤= تلون الجذر الرئيسي وتهرؤه وتلون قاعدة الساق. ٥= موت النبات. وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة Mckinney المذكورة اعلاة.

اختبار المقدرة التضادية للعامل الإحيائي *Trichoderma harzianum* ضد الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* على الوسط الزرعي PSA.

تم اختبار المقدرة التضادية للفطر*T . harzianum* ضد العزلة الممرضة من كلا الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* حسب طريقة الزرع المزدوج حيث قسم طبق بتري قطره 9 سم حاوي على الوسط الزرعي PSA بخط وهمي إلى قسمين متساويين، ولقح مركز القسم الأول من الطبق بقرص ٥ ملم من مستعمرة الفطر الممرض بعمر ٧ ايام ، بينما لقح القسم الأخر من الطبق بقرص مماثل من مزرعة الفطر *T . harzianum*. نفذت التجربة بواقع أربعة مكررات. وضعت الأطباق في حاضنة تحت درجة حرارة25 ±1 م° لمدة أسبوع واحد وقد تم تقدير المقدرة التضادية حسب مقياس (٨) والمكون من 5 خمس درجات :

الدرجة	المواصفات
1	العامل الإحيائي *T . harzianum* يغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو.
2	العامل الإحيائي يغطي ثلثي مساحة الطبق، ويغطي الفطر الممرض الثلث الباقي .
3	العامل الإحيائي يغطي نصف مساحة الطبق، و الفطر الممرض تغطي النصف الأخر من الطبق .
4	العامل الإحيائي يغطي ثلث مساحة الطبق، بينما يغطي الفطر الممرض الثلثين المتبقيين من الطبق.
٥	يغطي الفطر الممرض الطبق دون السماح للعامل الإحيائي بالنمو.

ويعد العامل الإحيائي فعالاً من الناحية التضادية عند إظهار درجة تضاد ١ أو ٢ مع الفطر الممرض.

تاثير بعض عزلات البكتريا *Azotobacter chroococcum* في نمو الفطرين *F. solani* و *F.sulphorium* الوسط الزرعي PSA.

اختبرت القابلية التضادية لثلاث عزلات من البكتريا المثبتة للنيتروجين *A .chroococcum* التي جمعت من مناطق حول الجذور لنباتات الحنطة والفاصوليا في محافظتي بابل وبغداد وشخصت الى مستوى النوع اعتمادا على الصفات المزرعية على الوسط SMS والمجهرية بعد تصبيغها بصبغة گرام واختبار الحركة والاختبارات الكيموحيوية ومقدرة العزلات على تثبيت النيتروجين الجوي (١) ضد الفطرين *F. solani* (FS-8) و *F.sulphureum* (Fsul-3) على الوسط الزرعيPSA وذلك باخذ ١ مل من عالق كل عزلة من العزلات البكتيرية (A3,A2,A1) النامية على وسط التنشيط السائل عمر ٥ ايام وصب بالقرب من حافة طبق بتري حاو على الوسط الزرعي PSA .وضع قرص قطر ٥ ملم من مزرعة الفطر الممرض عمر ٧ ايام بالقرب من حافة الجانب الاخر ، استعمل ٤ اطباق للمعاملة وتركت ٤ اطباق بدون اضافة البكتريا كمقارنة.حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ±1 م° لمدة ٧ أيام (١٦) . تم حساب معدل نمو الفطر والنسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة التالية:

$$\%\text{للتثبيط} = \frac{\text{نمو الفطر في معاملة المقارنة} - \text{النمو في المعاملة}}{\text{نمو الفطر في معاملة المقارنة}} \times ١٠٠$$

النتائج والمـــــناقشة

المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الفاصوليا

أظهرت نتائج المسح (جدول ١) وجود وانتشار مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا في جميع المناطق التي شملها المسح وبنسب إصابة متباينة تراوحت من ٤٠-١٠٠% وبشدة إصابة من ١٨-٧٥% وكانت اعلى شدة اصابة في العينات التي اخذت من مناطق المحاويل ،الطاهرية،الحصوة،البدعة، مشروع المسيب والامام على التتابع وبنسب اصابة ١٠٠% في معظم هذه المناطق. وقد يعود سبب ارتفاع الإصابة في هذه المناطق الى أنها مناطق متخصصة في زراعة الفاصوليا اذ يزرع فيها هذا المحصول سنويا خصوصا تحت البيوت المحمية في العروة الخريفية مما أدى الى تراكم لقاح الفطر الممرض وبشكل خاص الابواغ الكلاميدية والخيوط الفطرية التي تبقى في بقايا النبات و التربة لفترة طويلة سنوات(37،36).كما أظهرت النتائج أن اقل نسبة وشدة إصابة ظهرت في عينات منطقة المنصوري وربما هذا ناتج من ان الحقل زرع بالمحصول لأول مرة او ان المنطقة بعيدة عن النهر ومصادر المياه وهذا يقلل من الرطوبة التي تعد من العوامل الأساسية المهيأة للمرض(٢٢،32).

العزل والتشخيص

أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *F . solani* في معظم العينات (جدول ١) وقد حقق نسب ظهور تراوحت بين ١٤-٦٥%وشخصت ثلاث عزلات من الفطر *F.sulphureum* من ثلاث مناطق مختلفة وهي منطقة موبلحة ،العزاوية والامام وبنسبة ظهور١٥.٣٩،٦.٢٥ و١.٢٥ بالتتابع وهذا يعد اول تسجيل للفطر *F.sulphureum*على نبات الفاصوليا في القطر،يعد الفطر *Fusarium* من الفطريات المستوطنة بالتربة ويمتاز بكثرة عوائله و تزداد كمية لقاحة سنويا بتكرار زراعة العائل او العوائل البديلة كما ان للفطر القدرة على تكوين الابواغ الكلاميدية تمكن الفطر على البقاء لفترات طويلة في التربة ، وهذه النتائج تتفق مع ماتوصل الية(35) في راواندا من ان مسببات تعفن جذور الفاصوليا حققت نسبة إصابة عالية كانت بين ٩٣.٣-١٠٠%. في حين لم يسجل الفطر ظهورا في منطقة المنصوري وربما هذا ناتج عن ان الحقل مزروع لاول مرة بالفاصوليا ببذور نظيفة خالية من الإصابة.

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* .

- الكشف عن العزلات الممرضة للفطرين*Fusarium solani* و *F.sulphureum* باستعمال بذور اللهانة

أوضحت النتائج (جدول 2) أن جميع العزلات المختبرة سببت خفضا معنويا في النسبة المئوية لإنبات بذور اللهانة ولوحظ أن هناك تبايناً في المقدرة الامراضية لعزلات الفطرين*F. solani* و *F.sulphureum* التي تم الحصول عليها، حيث تفوقت العزلات FS-1-2 ، FS-2-2،FS-7-1، FS-8، Fsul-3، FS-2-3 بمقدرتها الإمراضية على بقية العزلات والتي كانت واضحة في التأثير في خفض النسبة المئوية للإنبات اذ كانت نسبة الانبات في معاملاتها ٠% قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها ٩٣.٣٣%. ويعزى سبب التاثير للعزلات الى مستوى إفرازات الفطر من المركبات الايضية الثانوية السامة والى المقدرة على افراز الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز والتي تكون مسؤولة عن حدوث التعفن في البذور ومن ثم منعها من الإنبات(31).

جدول (١) تكرار وجود الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* في عينات جذور الفاصوليا المصابة بتعفن الجذور وقواعد السيقان لبعض حقول في محافظة بابل للموسم الزراعي ٢٠٠٩-٢٠١٠ و نسبة تكرار ظهور عزلات في العينات.

% تكرار ظهور عزلات الفطر *F. solani* في العينات	% تكرار ظهور عزلات الفطر *F. sulphureum* في العينات
٣٢.٠	٦.٢٥
٤٧.٠	٠.٠
٣١.٠	١٥.٣٩
٠.٠	٠.٠
٣٠.٠	٠.٠
٦٠.٠	٠.٠
١٤.٠	١.٢٥
٦٥.٠	٠.٠
٢٠.٠	٠.٠

جدول (٢) الكشف عن العزلات الممرضة للفطرين *Fusarium solani* و *F. sulphureum* باستعمال بذور اللهانة

العزلات	% للإنبات	العزلات	% للإنبات
FS-1-2	٠.٠٠	FS-3-2	٢.٦٧
FS-2-2	٠.٠٠	FS-1-3	٤.٠٠
Fsul-3	٠.٠٠	FS-7-2	٥.٣٣
FS-7-1	٠.٠٠	FS-9	٥.٣٣
FS-8	٠.٠٠	FS-2-1	٨.٠٠
FS-2-3	٠.٠٠	Fsul-1	٩.٣٣
Fsul-7	١.٣٣	FS-6	١٢.٠٠
FS-3-1	١.٣٣	FS-1-1	١٤.٦٧
المقارنة	٩٣.٣٣	FS-5	٥٦.٠٠

LSD عند مستوى ٥% = ٩,٧٥

- تاثير الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* في انبات بذور الفاصوليا ونباتاتها

بينت النتائج (جدول ٣ و٤) ان جميع العزلات المختبرة سببت خفضا معنويا بنسبة انبات بذور العائل اذ بلغت نسبة الانبات في معاملات العزلات ٠.٠-٧٠.٠% بعد خمسة ،ستة،سبعة وثمانية ايام من الزراعة التي اختلفت معنويا قياسا بمعاملة المقارنة بدون اضافة الفطر الممرض والتي كانت نسبة الإنبات فيها٦٥.٠ -٨٧.٥ % بالتتابع كما سببت العزلات نسبة إصابة بلغت١٠٠% للمجموع الخضري والجذري وبفروق معنوية كبيرة عن معاملة المقارنة والتي كانت نسبة الإصابة فيها صفراً.(جدول ٤) وشدة إصابة ١٠٠% في العزلةFS-8ادت في النهاية الى موت البادرات بعد بزوغها ،بينما كانت شدة الاصابة للمجموع الخضري والجذري لبقية العزلات مرتفعة وتراوحت بين٤٥-٩٠% و٦٠-٩٥% بالتتابع وهذا يعد من الأعراض المرضية المميزة حيث يهاجم الفطر *Fusarium* بذور العائل ويسبب تعفنها ومنعها من الانبات كما يهاجم البادرات قبل البزوغ مما يحدث خفضا كبيرا بنسب البذور النابتة من خلال قتل البذور او اضعاف البادرة وتأخير بزوغها(٢٢). ووجد من نتائج أعادة عزل المسبب المرضي من الجذور و السيقان المصابة بالعزلة FS-8 في هذه التجربة ان الصفات المظهرية لها مطابقة لصفات الفطر *F. solani* والعزلة التي تمت أضافتها للتربة ، وانه المسبب لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا الفيوزارمي وبينت النتائج(جدول ٥) ان الاصابة بالفطرين الممرضين أدت إلى خفض الوزن الطري والجاف بشكل واضح قياسا بمعاملة المقارنة . أن ظهور أعراض تعفن الجذور وقواعد السيقان ناجم عن مهاجمة الخيوط الفطرية للمسبب المرضي بالأختراق المباشر للنسيج وامتداد الخيوط الفطرية بين خلايا القشرة أو داخلها

أحياناً مسببة بذلك تلون الأنسجة بلون بني وقد يحدث ذلك قبل وصول الخيوط الفطرية اليها ، وذلك لأن الفطر يفرز مواد سامة وأنزيمات سليلوزية وبكتينية من شأنها قتل وتحليل مكونات الخلايا والمواد المكونـة للصحيفة الوسطى والتي تربط الخلايا مع بعضهـا (٢٤، ٢٩).

جدول ٣. تأثير بعض عزلات الفطرين *Fusarium solani* و *F. sulphureum* في إنبات بذور الفاصوليا

العزلات	% للإنبات			
	اليوم الخامس	اليوم السادس	اليوم السابع	اليوم الثامن
FS-8	٠.٠	٠.٠	٢.٥	٢.٥
FS-1-2	٠.٠	٠.٠	٢.٥	٥.٠
Fsul-3	٢.٥	10.0	20.0	27.5
FS-5	٧.٥	١٢.٥	١٥.٠	٦٧.٥
FS-2-2	١٠.٠	١٧.٥	٢٧.٥	٣٧.٥
FS-9	١٠.٠	٢٠.٠	٣٧.٥	٦٧.٥
FS-3-1	١٢.٥	٢٥.٠	٤٠.٠	٤٥.٠
FS-6	٣٢.٥	٤٠.٠	٤٢.٥	٥٠.٠
FS-7-1	٣٧.٥	٤٧.٥	٥٥.٠	٧٠.٠
المقارنة	٦٥.٠	٨٠.٠	٨٢,٥	٨٧,٥
L.S.D	٢٣.١٠	٢٦,٢٧	٢٨,٢١	١٥,٠٣

جدول ٤ . نسبة وشدة اصابة الفاصوليا بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان المتسبب عن الفطرين *Fusarium solani* و *F.sulphureum* بعد أربعة أسابيع من الزراعة

المعاملة	المجموع الخضري		المجموع الجذري	
	% الاصابة	%شدة الإصابة	% الاصابة	%شدة الإصابة
FS-8	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
FS-6	١٠٠	٩٠	١٠٠	٩٥
Fsul-3	١٠٠	٨٥	١٠٠	٩٠
FS-9	١٠٠	٨٥	١٠٠	٧٥
FS-2-2	١٠٠	٨٠	١٠٠	٨٠
FS-5	١٠٠	٥٠	١٠٠	٨٠
FS-7-1	١٠٠	٤٥	١٠٠	٦٠
المقارنة(بدون فطر ممرض)	٠	٠	٠	٠
LSD		١٦.٨٥		١٧.٣٧

جدول ٥. تأثير بعض العزلات الممرضة في بعض معايير نمو نباتات الفاصوليا بعد ٤ اسابيع من الزراعة

المعاملة	الوزن الطري(غم)	الوزن الجاف(غم)
FS-6	٠.٤٩٨	٠.١٤٠
Fsul-3	٠.٦٩٥	٠.٠٨٥
FS-3	٠.٨٢٥	٠.١٤٥
FS-2-2	١.٠٢٥	٠.١٢٠
FS-9	١.٦٥٠	٠.١٦٧
FS-5	١.٧٧٥	٠.١٣٢
FS-7-1	١.٨٠٠	٠.١٦٢
المقارنة(بدون فطر ممرض)	٢.٢٢٥	٠.٢٣٥
L.S.D	٠.٣٥٠	٠.٠٥١

اختبار المقدرة التضادية للعامل الإحيائي *Trichoderma harzianum* ضد الفطرين *Fusarium solani* و *F. sulphureum* على الوسط الزرعي PSA

أوضحت النتائج ان عامل المكافحة الاحيائية الفطر *T. harzianum* كان فعالاً من الناحية التضادية مع عزلة الفطر الممرض *F. solani* . إذ حقق العامل الإحيائي مقدرة تضادية أحتلت الدرجة 1 حسب المقياس (٨) وهذا يتفق مع (٣، ٣٥) . ان امتلاك الفطر *T. harzianum* لهذه الخاصية قد يعود لعدة أسباب جعلت من هذا الفطر عامل مكافحة احيائية ضد العديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطر *F. solani* ومن هذه الاسباب التطفل المباشر على الغزل الفطري للممرض عن طريق الألتفاف حول خيوطه وتحليل جدرانه بواسطة الأنزيمات التي يفرزها وانتاج المضادات الحيوية والتي تؤثر بشكل سلبي على نمو الفطر الممرض (١٢، ٢١) . وأمتلاك الفطر *T. harzianum* قدرة تنافسية عالية على المكان والغذاء بسرعة نمو وامتلاكه لطاقة لقاحية عالية (١٣، ٣٦) .

تاثير بعض عزلات البكتريا *Azotobacter chroococcum* في نمو الفطرين *F. solani* و*F. sulphureum* الوسط الزرعي PSA.

بينت نتائج هذا الاختبار(جدول ٨) أن استعمال بكتريا *A . chroococcum* كعامل مكافحة إحيائية أدى إلى تثبيط نمو الفطرين الممرضين *F. solani* و *F. sulphureum* في الوسط الزرعي PSA بنسبة٥١.٧، ٥٩.٨، ٦٢.٦% لعزلات البكتريا A-3 ،A-1، A-2 بالتتابع ضد الفطر الممرض FS-8. و٤٦.٣ ،٥٠.٧، ٧٦.٩% للعزلات A-1، A-2،A-3 بالتتابع ضد الفطر الممرض Fsul-8 مقارنة بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط صفر% في معاملاتها.وأشارت النتائج وجود فرق معنوي في نسب التثبيط بين عزلات البكتريا *A . chroococcum* باختلاف الفطر الممرض ، إن التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتريا في تثبيط نمو الفطر الممرض قد يعود إلى مقدرة هذه البكتريا على إنتاج مواد أيضية ومركبات عضوية وإنتاج أندول حامض الخليك وبعض الإنزيمات والمضادات الحيوية وإنتاج HCN وغيرها (١٦، ٣٠).

جدول ٦ . تأثير بكتريا *A. chroococcum* في تثبيط نمو الفطرين *Fusarium solani* و*F. sulphureum* في الوسط الزرعي PSA

المعاملة	معدل نمو الفطر(سم)	%التثبيط
Fsul-3+ A-3	2.08	٧٦.٩
FS-8+ A-2	٣.٣٩	٦٢.٦
FS-8+A-1	٣.٦٥	٥٩.٨
FS-8+ A-3	٤.٣٨	٥١.٣
Fsul-3+ A-2	٤.٤٤	٥٠.٧
Fsul-3+ A-1	٤.٨٤	٤٦.٣
المقارنة(فطر بدون بكتريا)	٩.٠٠	٠.٠

(%٥)L.S.D	٠.٧٩٦	٨.٠٨

المصادر

١.مطلوب،عهد عبد علي هادي و كامل سلمان جبر.٢٠١٠. تحديد انتشار مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا المتسبب عن الفطر*Rhizoctonia solani* واختبار القابلية التضادية لبعض عوامل المكافحة الإحيائية ضده تحت الظروف المختبرية. المؤتمر العلمي الزراعي الأول.كلية الزراعة.جامعة كربلاء.

2.Abawi,G.S.,D.C.Crosier and A.C.Cobb.1985.Root Rot of snap bean in New York.New york state agricultural experiment station .Cornell University.7pp.

٣.Abawi, G.S., J.W. Ludwig, and B.K. Gugino. 2006. BRR evaluation protocols currently used in New York. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 49:83-84.

5.Abd-El-Kareem,F.2007.Induce resistance in bean plants against root rot and Alternaria leaf spot diseases using Biotic and Abiotic Inducers under field condition.Research Journalof Agriculture and Biological Sciences,3(6):767-774.

6. Agrawal, N. and H. P. Singh . 2002. Antibiotic resistance and inhibitory effect of Azotobacter on soil borne plant pathogens. Indian Journal of Microbiology 42: 245-246.

7. Akrami,M., A. Ibrahimov,.S.H.,Doustmorzafari,and E.Valizadeh.2009.Control Fusarium Rot of bean By combination by *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* in green house condition.Agriculture journal.4 (3):121-123

6. Beebe, S.E., F.A. Bliss, and H.F. Schwartz. 1981. Root rot resistance in common bean germplasm of Latin American origin. Plant Disease 65:485-489.

8. Bell , D. K. , H. D. Well , and G. R. Markham . 1982 . In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant Pathogens. Phytopathology . 72 : 379 – 382 .

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

10. Booth , C. (1977). Fusarium .Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth mycological institute ,Ferry Lane, Kew , surrey , England , 58pp.

11.Bost,S.2006.Root Rot and seedling disease of beans and peas.The University of Tennessee.

12. Buruchara,R.2003.Integrated management strategies for bean root rot in Africa. Highlights CIAT in Africa No 2 .

13. Chet , I. and R. Baker . 1981 . Isolation and Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani* . Phtopathology . 71 : 286 – 290 .

14. Elad , Y. and Y. Hadar . 1981 . Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation . Plant Dis. 65 : 675 – 677 .

15. EL- Komy, M. H. A. 2001 . Biocontrol of soil – borne fungi and increasing production using growth promoting Rhizobactera. M.SC. Theses of Science in plant pathology. Alexandria University.

16. Fatima,Z.,M.Saleemi,M.Zia,T.Sultan,M.Aslam,R.,Rehman and M.F.Chaudhary. 2009. Antifungal activity of plant growth promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat.African Journal of Biotechnol.8(2):219-225.

17. Fisher , C. G. and K. E. Conway . 1983 . Fluid Drilling : Apotential Delivery system for fungal Biological control Agents with small – seeded vegetables . Proc. Okla. Acad. Sci. 63 : 100 – 101 .

18. Ganesan,S.,R.G. kuppusamy ,and R.Sekar.2007.Integrated management of stem rot disease (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut (Arachis hypograea L.) using Rhizobium and *Trichoderma harzianum*(ITCC-4572).Turk J.Agric For ,31:103-108.
19. Hall, R. 1991. Compendium of Bean Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
20. Haran , S., H. Schickler and I. Chet . 1996 . Molecular mechanism of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum.* Microbiology . 142 : 2321 – 2331 .
21. Harman , G. E. 1996 . Trichoderma for Biocontrol of plant pathogens : From Basic Research to commercialized Products . Cornell community , Conference on Biological control , Cornell Univ. 7pp .
22. Harman , G. E. 2000 . Myths and Dogmas of Biocontrol , changes in preceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T- 22 . Plant Dis. 84 : 377 – 393 .
23. Hillel, D. 2005 .Bacteria Plant Growth Promotoning. Elsevier , Oxford, U.K. (1):103 -115.
24. Howell, C. R. .2003.Mechansim employed by *Trichoderma* species in the Biological control of plant disease: The history and evolution of current concepts . Plant Dis. 87(1) : 1 -9.
25. Howell, C. R. .2006. Understanding the Mechansim employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases.Phytopathology.96(2):178-180.
26. Jensen,C.E.,J.E.Kurle,and J.A.Percich.2010.Integrated strategies to control bean root rot in Minnesota. Northarvest bean growers association.
27. Joseph,B.,R.Ranjan and, R.Lawrence.2007.Characterization of plant growth promoting Rhizobacteria associated with Chick pea (*Cicer arietinum* L.).International Journal of plant production .2:141-152.
28. Laemmlen , F . 2001 . Damping – off Diseases . Regents of the Univ. of California , Division of Agriculture and Natural Resources .
29. Mali, G. V. and M. G. Bodhankar. 2009 Antifungal and Phytohormone production potential of *Azotobacter chroococcum* isolates from groundnut(*Arachis hypogea*) Rhizosphere.Asian J.Exp.Sci.23(1):293-297.
30. Mckinney,H.H..1923.Biological control of nematode pests by natural enemies.Ann.Rev.Pytopathol.18:415-440.
31. Mehrotra , R. S., K. R. Aneja , and A. Aggarwal . 1997 . Fungal control agents . Environmentally safe approaches to crop disease control . 111 – 137 .
32. Park, S.J., and J.C. Tu. 1994. Genetic segregation of root rot resistance in dry bean. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 37:229-230.
33. Roman-Aviles,B.S,S.Snapp,and J.D.Kelly.2003.Root Rot of common bean .Michigan state uni.Extension E2876.
34.Rusuku,G.,R.A.Buruchara,M.Gatabozi andM.A.Pastor-Corrales. 1997.Occurrence and distribution in Rwanda of soil borne fungi pathogenic to the common bean .Plant Dis.81:445-449.
35. Sallam,N.M.A.,K.A.M.,Abo–Elyousr ,and M.A.E.Hassan.2008.Evaluation of Trichoderma species as biocontrol agents for damping – off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula.Eygpt J.Phytopathol,36(1-2)81-93.
36. Schwartz,H.1999.Root Rot of dry beans. Colorado State University Cooperative Extension.

37. Schwartz,H.,D.H.Gent,G.D.Franc,and R.M.Harveson.2007.Dry Bean Fusarium Root Rot.
38. Singh, T. 1977. Studies on interaction between *Azotobacter chroococcum* and some plant pathogens. IAP, Ph. D. Thesis . Cited from Can. J. Microb. , New Delhi).
39. Thompson,J.P. and V.B.D. Skerman, (1979). Azotobacteraceae. The Taxonomy and Ecology of Aerobic Nitrogen-Fixing Bacteria. Academic Press, London.