ISSN: 2790-5306 (Print), 2790-5314 (Online)
مجلة الزراعة العراقية البحثية ـ وزارة الزراعة
متاح على الانترنت: www.ijarmoa.gov.iq
مجلد 27 العدد (1) 2023
IJAR
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لزراعة الانسجة للموز *Musa acuminate* والتأثير التآزري التثبيطي في المبيد الفطري Beltanol وكبريتات النحاس*

صبا صادق حسين [1] عبد النبي عبد الامير مطرود[1] محمد حمزة عباس[1]

E-mail: abdu1988875@yahoo.com

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى إيجاد مواد كيميائية تثبط الفطريات الملوثة للموز النسيجي بشكل تام دون التأثير في النبات من خلال استخدام المبيد الكيميائي بلتانول وكبريتات النحاس وتداخلاتهما. من خلال مجريات البحث تم عزل وتشخيص الفطريات من مزارع نسيجية تعود الى نبات الموز صنف **Grand 9** اذ تم عزل ستة انواع فطرية هي ***Aspergillus flavus*** و ***Aspergillus niger*** و ***Cladosporium oxysporum*** و ***Penicillium digitatum*** و ***Penicillium expansum*** و ***Penicillium sp.***.

اظهرت المثبطات الفطرية المختبرة، المبيد **Beltanol** وكبريتات النحاس فاعلية جيدة ضد الفطريات المعزولة، إذ اظهر المبيد **Beltanol** اعلى نسبة للتثبيط فبلغت **100%** لكل الفطريات قيد الدراسة بالتراكيز **125 ppm** و**250** و**500** ، ما عدا التركيز **62.5 ppm**، اذ بلغت متوسط تأثير التركيز في الفطريات جميعها **48%**، واظهرت كبريتات النحاس نسبة تثبيط **100%** بالتراكيز **1000ppm** و **1500** و **2000** مع الفطريات كافة، اما مع التركيز **0.5** غم/لتر كان اعلى تثبيط مع الفطر ***A . flavus*** بنسبة بلغت **66%** واقل تثبيط كان مع الفطر ***C. oxysporum*** بنسبة تثبيط **30%**. وأوضحت الدراسة التأثير التآزري بين المبيد **Beltanol** ***62.5 PPM***، وكبريتات النحاس **ppm 500** ان استخدام اقل التراكيز وبشكل تأزري اعطى نسب تثبيط **100%** للفطريات الملوثة كافة للمزارع النسيجية وأيضا في انبات ابواغها.

الكلمات الدالة: الموز النسيجي، مبيد البلتانول، كبريتات النحاس، التأثير التأزري، *Aspergillus* ، *Penicillium*

المقدمة

يعد الموز(***Musa acuminata***) من النباتات ذوات الفلقة الواحدة ينتمي الى العائلة الموزية **Musaceae** ، وهو الفاكهة الأولى في آسيا والمحيط الهادئ من حيث الإنتاج **[7]**. يزرع على نطاق واسع في المناطق المدارية وشبه

* جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول

[1]كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.

تاريخ تسلم البحث: 14/شباط/2023
تاريخ قبول البحث: 10/ايار/2023

الاستوائية في جميع أنواع النظم الزراعية من الحدائق الصغيرة الى الحدائق الكبيرة. يستخدم المحصول في العديد من البلدان كغذاء أساسي وقيمة اقتصادية كبيرة [11].

يتم إنتاج اصناف من الموز عالي الجودة بطرق عديدة ولعل اهمها تقنية زراعة الأنسجة النباتية، إذ توفر هذه التقنية انتاج اعداد كبيرة من النباتات فضلاً عن أنها خالية من الآفات والأمراض [26]. يعد التلوث الفطري أحد التحديات الرئيسة التي تواجه النبات في مختبرات زراعة الانسجة في مراحل مختلفة من عمليات الاستزراع مثل مرحلة النشوء والزراعة الفرعية. تعد عملية الزراعة الفرعية مصدراً رئيسياً للتلوث حيث يتم ادخال حوالي 5-15% من الملوثات بسبب هذه العملية [13]. السبب الرئيسي للتلوث الفطري هو عدم كفاية تعقيم النباتات المستأصلة ووسائط وأدوات العمل بالإضافة الى أيدي المشتغلين [16]. تتم اضافة المضادات الحيوية العوامل المضادة للفطريات في وسط نمو المزارع النباتية للتخلص من الملوثات الفطرية والبكتيرية [19] كما ان استخدام المبيدات الفطرية مع الوسط الزرعي يعطي نتائج إيجابية سريعة ويمنع نمو وظهور الفطريات في الوسط الزرعي المعد للزراعة النسيجية وكذلك في النسيج النباتي [17]. استخدمت المبيدات الفطرية في مختبرات الزراعة النسيجية في العراق لمنع حدوث التلوث ومن هذه المبيدات مبيد الكاربيندازيم ومبيد سكور **Difenoconazole** وكانت لها نتائج جيدة وبدون اثار جانبية على نمو وتطور النسيج النباتي [2]. قد بينت دراسة من قبل **Abass et al.** [1] ان لمبيد البنليت تأثيراً ايجابيا في تثبيط الفطريات الملوثة في مختبرات زراعة الانسجة وكان له ايضا اثرا على الفطريات الاكثر شيوعا مثل الفطر ***Aspergillus niger***. وإن استخدام المبيدات لمنع تلوث المزارع النسيجية يجب ان يكون وفق دراسة مسبقة بحيث يتم اختيار افضل المبيدات من ناحية التأثير دون التأثير على النبات
[15و20].

استخدمت كبريتات النحاس في المجال الزراعي لمقدرتها على مكافحة المسببات الممرضة الفطرية لوجود معدن النحاس السام فيها وايضا كونه عنصر غذائي أساسي للخلايا الحية لأنه مكوناً للعديد من لإنزيمات المعدنية مثل السيتوكروم سي أوكسيديز
[14 و21]. النحاس عنصر مهم للنبات ويعد من العوامل المساعدة النشطة في عمليات بايولوجية مختلفة فهو يدخل في أنظمة الانزيمات والبروتينات والتكوين الجنيني [5]. ويعد عنصرا غير ساماً للنبات اذا استخدم بتراكيز منخفضة.

ان الهدف من هذه الدراسة هو استخدام الطرق الكيميائية المتمثلة بالمثبطات الفطرية للحد من التلوث الفطري بشكل كامل داخل جارات الموز النسيجي الذي يعد من اهم أسباب فشل الزراعة النسيجية.

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة للموز النسيج

اخذت نماذج من جارات مزروع فيها موز نسيجي صنف **Grand9** أظهرت نمو فطري على الوسط الزراعي للموز النسيجي. تم عزل المستعمرات الملوثة على وسط زرعي **Potato dextrose (PDA) [LAB-M,UK] agar** معقم في اطباق بتري دش بمعدل ثلاثة اطباق لكل فطر ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة **25** ^{o}م وبعد خمسة ايام حسبت نسبة ظهور الفطريات حسب المعادلة التالية:

$$\text{لظهور النوع} = \frac{\text{عدد مستعمرات النوع في العينة}}{\text{عدد مستعمرات الانواع الظاهرة في العينة المفحوصة}} \times 100\%$$

تمت تنقية المستعمرات النامية بأخذ جزء من طرف المستعمرة بواسطة الثاقب الفليني ووضع في اطباق تحتوي على الوسط الزرعي **PDA** ايضاً، وتم حضنها على درجة **25** ^{o}م وبعدها تم تشخيص الصفات المظهرية والمجهرية تحت المجهر المركب نوع **Biolab line** –الصين وعلى قوة تكبير **40X** حسب المفاتيح التصنيفية المذكورة في **Geiser** و **LoBuglio [9]**. حفظت العزلات على وسط زراعي **PDA** وبدرجة حراة **4** ^{o}م الى حين اجراء التجارب.

اختبار القدرة الإمراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي:

حضر وسط زراعي **PDA** وصب في اطباق بتري بمعدل ثلاث مكررات لكل فطر وتمت زراعة بذور الفجل (***Raphanus sativus***) بعد تعقيمها بواسطة هيبوكلورات الصوديوم (**NaOCl**) بنسبة **5%** لمدة دقيقتين ثم غسلت البذور بماء مقطر معقم بعدها نشفت على ورق ترشيح ثم زرعت بشكل دائري حول جزء المستعمرة لكل عزلة وكلا على حدة، اما معاملة المقارنة، فقد زرعت على الوسط الزرعي نفسه ولكن بدون عزلة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة**25** ^{o}م لمدة سبعة ايام. حسبت القدرة الامراضية للفطريات حسب سلم مرضي مكون من **6** درجات، **o** = بذور سليمة، **1** = تلون جزء من البادرات باللون البني مع اتصالها بالفطر،**2** = الفطر يغزو غلاف البذرة لكن البادرات سليمة، **3** = غلاف البذرة خال من الفطر لكن البادرات مصابة،**4** = غلاف البذرة والبادرات مصابة **5**= البذور مصابة وغير نابتة **[15]**.

تأثير تراكيز من المبيد الفطري **Beltanol** في تثبيط الفطريات الملوثة:

أستعمل في هذه التجربة المبيد الفطري **Beltanol** (المادة الفعالة / كينوزول، تركيزها / **50%**، الشركة المنتجة / بروبلت / اسبانيا)، حضر وسط غذائي **PDA** وعُقِم في جهاز التعقيم البخاري وبعد التعقيم ترك ليبرد حتى تنخفض درجة حرارته إلى ما قبل التصلب وزع في دوارق زجاجية حجم (**250**) وبمعدل (**2100**) مل لكل دورق، أضيفت التراكيز **62.5 ppm** و **125** و **250** و**500** من المبيد الى الدوارق الحاوية على الوسط الزرعي (وتم تحضير التراكيز باضافة كل تركيز الى **1** لتر من الوسط الزرعي) رُجت الدوارق المضاف اليها المبيدات جيدا لغرض تجانس توزيع المبيد مع الوسط الغذائي، صُب الوسط الغذائي الذي يحتوي على المبيدات في أطباق بتري زجاجية معقمة بقطر **9** سم لقحت الأطباق بأقراص قطرها **0.5** سم من العزلات ***Aspergillus flavus*** و ***Aspergillus niger*** و***Cladosporium oxysporum*** و***Penicillium digitatum*** و***Penicillium expansum*** و ***Penicillium sp.*** والمنماة على وسط غذائي **PDA** المعقم، أما معاملة المقارنة فتضمنت تنمية العزلات في وسط زرعي خال من المبيدات، حضنت الأطباق جميعها بدرجة حرارة (**25 ±2** ^{o}م) لمدة سبعه أيام بعدها تم حساب معدل نمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز المستعمرة وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو وفق معادلة **Abutt** التي ذكرها كل من **Shaaban** و **Al-Mallah [23]**.

$$\text{التثبيط\%} = \frac{\text{معدل قطر النمو في المقارنة} - \text{معدل قطر النمو في المعاملة}}{\text{معدل قطر النمو في المقارنة}} \times 100\%$$

تأثير تراكيز من كبريتات النحاس في تثبيط الفطريات الملوثة

استعملت تراكيز من كبريتات النحاس **500 ppm** و **1000** و **1500** و **2000** وتمت اضافتها الى الوسط الزراعي **PDA** الذي اعد لأجل التجربة في دورق زجاجي قياس**250** مل لكل تركيز وتم صبه داخل غرفة الزراعة المعقمة بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة، اضافة الى ثلاث مكررات للمقارنة بدون اضافة كبريتات النحاس وتركت حتى تتصلب، ثم لقحت جميع الاطباق كافة بالعزلات بأخذ جزء من المستعمرة بقياس **0.5** سم بواسطة الثاقب الفليني ووضعه في وسط الطبق، حضنت الاطباق على درجة حرارة **25** ^{o}م لمدة سبعة ايام بعدها تم حساب معدل نمو الفطر بحساب

معدل قطرين متعامدين يمران بمركز المستعمرة من ظهر الطبق وحسبت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات وفق المعادلة المذكورة آنفاً.

التأثير التآزري بين كبريتات النحاس والمبيد Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة

استخدم في هذه التجربة خلط **500 PPM** من كبريتات الناس مع **125 ppm** من مبيد **Beltanol**. وتم تحضير وسط زرعي **PDA** في دورق زجاجي سعة **250** مل وتمت معاملته بالمخلوط آنفاً ثم ادخل الى الأوتوكليف بدرجة حرارة **121** ^{o}م لمدة **20** دقيقة ترك لكي يبرد وقبل التصلب صب في اطباق بترية قياس **9** سم في داخل غرفة الزراعة المعقمة وتركت حتى تتصلب، تم تلقيح جميع الاطباق بجزء من المستعمرة بقياس **0.5** بواسطة الثاقب الفليني في وسط الطبق وحضنت على درجة حرارة **25** ^{o}م لمدة **7** ايام ثم تم حساب معدل نمو الفطر بحساب معدل قطرين متعامدين يمران في وسط مستعمرة الفطر من ظهر الطبق وحسبت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات وفق المعادلة اعلاه.

تأثير المبيد 125 ppm Beltanol مع 500 ppm $CuSO_4$ في انبات الابواغ

حضر وسط غذائي **PDA** وصب في اطباق بترية معقمة قياس **9** سم وتركت حتى تتصلب، ثم لقحت الاطباق بجزء من مستعمرات العزلات بقطر**0.5** سم بواسطة ثاقب فليني ،حضنت الاطباق بدرجة حرارة (**25 ±2** ^{o}م) ولمدة سبعة ايام، بعدها حضر المعلق البوغي **Spore suspention** عن طريق قشط سطح النمو الفطري لكل عزلة قيد الدراسة بواسطة ناقل حلقي معقم للحصول على الابواغ الكونيدية، ووضع في انابيب اختبار تحتوي على **4.5** مل ماء مقطر، ورج الانبوب جيداً لتحريك الابواغ، ثم اخذ **1**مل من المعلق البوغي واضيف الى انبوبة اخرى تحتوي على **9** مل ماء مقطر. كررت هذه العملية للحصول على التخفيف 10^{-4}، اخذ **1** مل من التخفيف الاخير واضيف الى اطباق بترية معقمة يحتوي كل طبق على **20** مل من وسط **Water agar** بعضها مضاف له مبيد **62.5 ppm Beltanol** مع كبريتات النحاس **500 ppm** والبعض الاخر بدون اضافة للمقارنة بواقع ثلاث مكررات لكل عزلة من الوسط الزراعي المضاف له وغير المضاف له، وبعد مرور **48** ساعة من الحضن تم حساب عدد الابواغ النابتة واستخرجت النسبة المئوية لتثبيط الانبات من المعادلة التالية:

$$\% \text{ لتثبيط الانبات} = \frac{\text{معدل الانبات في معاملة السيطرة} - \text{معدل الابواغ النابتة في المعاملة}}{\text{معدل الانبات في معاملة السيطرة}} \times 100$$

التحليل الاحصائي:

استخدم التصميم العشوائي الكامل(**Compeletely Randomized Design (CRD**) في التجارب المختبرية، وتمت مقارنة المتوسطات كافة وحسب طريقة اقل فرقاً معنوياً(**L.S.D**) وتحت مستوى احتمال **0.05**. تم استخدام البرامج الاحصائي **Genstat** وأيضا البرنامج **Microsoft Excel** في تحليل البيانات وأيضا رسم الاشكال البيانية.

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة للموز النسيجي

يبين جدول **1** مجموعة من الفطريات الملوثة لمزارع الموز النسيجي التي تم عزلها ثم تشخيصها مظهرياً ومجهرياً وتشير النتائج الى اختلاف النسبة المئوية لظهور الفطريات، اذ يلاحظ ان اكثر الفطريات ظهوراً هو الفطر ***P.***

digitatum بنسبة ظهور بلغت **41.33**%، ويليه الفطر ***P. expansum*** بنسبة ظهور**39.56**%، ثم الفطر ***A. niger*** بنسبة ظهور **37.00**%، ثم الفطر **A.flavus** بنسبة ظهور **33.00**%، ثم الفطر ***penicillium sp*** بنسبة ظهور **31.77**%، ثم الفطر ***Cladosporium oxysporum*** بنسبة ظهور **23.81**%. وهذا يتفق مع ما ذكره **et Leifert al. [12]** ان الملوثات الرئيسية من الفطريات للمزارع النسيجية هي ***Aspergillus* niger** و ***Penicillium spp.*** و ***Fusarium spp.*** التي يمكنها ان تقلل من معدلات النمو وتأخير التجذير وايضا تسبب موت النبات. وقد أوضح كل من **Leifert** و**Cassells** (**13**) بان الفطريات الملوثة يمكنها ان تلوث المزارع النسيجية في اية مرحلة من مراحل الزراعة النسيجية وخصوصاً اجناس الفطريات ***Aspergillus*** و ***Penicillium***.

جدول **1**: الفطريات الملوثة للموز النسيجي صنف **Grand–9** ونسبة ظهورها

الفطريات الملوثة	% لظهور الفطريات
Aspergillus flavus	**15.00**
Aspergillus niger	**16.88**
Cladosporium oxysporum	**10.02**
Penicillium digitatum	**23.30**
Penicillium expansum	**21.30**
Penicillium sp.	**13.50**

اختبار القدرة الإمراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي

أظهرت نتائج اختبار القدرة الإمراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي في الوسط الغذائي **P.D.A** (جدول –2) ان الفطر ***A.niger*** كان أكثر تأثيراً في النسبة المئوية لإصابة البذور إذ بلغت شدة الاصابة **51.66** %، تلاه الفطر***P .expansum*** اذ بلغ **47.75**% وتفاوتت النسبة المئوية لإصابة البذور لبقية الفطريات. وهذا ما ذكره **et al. Wu [27]** و ***Perrone* et al. [18]**، إذ ان الضرر الكبير للفطريات الملوثة واهمها الفطران **spp. *Penicillium*** و***Aspergillus spp.*** هو ان لها المقدرة على انتاج الفلاتوكسينات مثل B_1,B_2,G_1,G_2 والاحماض والتي يكون لها عمل في اتلاف الخلايا، وبين **Suleiman** و **Omafe [25]** ان هذه الفطريات تسبب اضرارا جسيمة في انتاج البذور وجودة البذور من خلال تدهور انباتها وتعفنها.

جدول **2**: اختبار القدرة الامراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي صنف **Grand–9**

الفطريات الملوثة	% لشدة الإصابة
Aspergillus flavus	**41.66**
A. niger	**51.66**
oxysporum Cladosporium	**22.86**
Penicillium digitatum	**38.16**
p. expansum	**47.75**
Penicillium spp.	**29.86**

تأثير بعض التراكيز من مبيد **Beltanol** في تثبيط الفطريات الملوثة

بينت النتائج في جدول **3** ان اضافة مبيد **Beltanol** الى الوسط الزراعي **PDA** وبتراكيز مختلفة ادى الى تثبيط نمو الفطريات المعزولة من مزارع الموز النسيجي صنف **Grand-9** وبنسب تثبيط مختلفة، إذ يوضح الجدول ان اعلى نسبة للتثبيط باستخدام مبيد **Beltanol** بلغت **90** % للفطر ***P. digitatum*** بعدها ***Penicillum. spp.*** بلغت **88.75** % وبفروق معنوية عن باقي الفطريات ثم الفطر **A. niger** بلغت **87.5**% ثم الفطر **P**

expansumوالفطر A. flavus بنسب تثبيط 86.5 % و86 % وعلى التوالي. اما اقل نسبة للتثبيط فقد بلغت 83.5 % للفطر Cladosporium oxysporum. فيما يخص تأثير تراكيز المبيد Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة فقد بينت النتائج ان النسب النوية للتراكيز (125، 250، 500) PPM قد ثبطت جميع الفطريات المعزولة بنسبة بلغت 100 % وبفرق معنوي عن التركيز125 PPM الذي سجل نسبة تثبيط 48 %. ويعزى السبب الى حساسية هذه الفطريات للمبيدات الفطرية وتفاوتها في نسب التثبيط وهذا ما اكده .Corkley et al[6] و .Sanchez et al [22]، إذ ان حساسية الفطر P. digitatum تكون عالية للمبيدات الفطرية مع تفاوت هذه الحساسية للفطريات الاخرى.

جدول 3: تأثير بعض التراكيز من المبيد Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة

الفطريات	% لتثبيط الفطريات				متوسط تأثير التثبيط
	تراكيز مبيد PPM Beltanol				
	62.5	125	250	100	
Aspergillus flavus	44	100	100	100	86
A . niger	50	100	100	100	87.5
Cladosporium oxysporum	34	100	100	100	83.5
Penicillium digitatum	60	100	100	100	90
P .expansum	45	100	100	100	86.25
Penicillium spp.	55	100	100	100	88.75
متوسط تأثير التراكيز	48	100	100	100	
L.S.D 0.05	لمتوسط الفطريات= 1.709 لمتوسط التراكيز= 1.395 التداخل= 3.417				

تأثير تراكيز من $CuSO_4$ في تثبيط الفطريات الملوثة

اظهرت نتائج جدول 4 ان اضافة $CuSO_4$ الى الوسط الزراعي بتراكيز مختلفة للوسط الزرعي ادت الى وجود فروق معنوية ما بين متوسطات المعاملات للفطريات الملوثة، إذ ان اعلى نسبة تثبيط كانت مع الفطر *A . flavus* بنسبة 91.5 % ويليه الفطر *Penicillium spp.* بنسبة 90 % وبفرق معنوي عن بقية الفطريات بينما بلغت نسبة التثبيط 87.5 % للفطرين *P. digitatum* والفطر *A. niger* وكانت اقل نسبة للتثبيط مع الفطر Cladosporium oxysporum وهي 82.5 % وبفرق معنوي عن بقية الفطريات.

جدول4: تأثير تراكيز من $CuSO_4$ في تثبيط الفطريات الملوثة

الفطريات	% لتثبيط الفطريات				متوسط تاثير التثبيط
	تراكيز $CuSO_4$ ppm				
	500	1000	1500	2000	
Aspergillus flavus	66	100	100	100	91.5
A. niger	50	100	100	100	87.5
Cladosporium oxysporum	30	100	100	100	82.5
Penicillium digitatum	50	100	100	100	87.5
P .expansum	40	100	100	100	85
Penicillium spp.	60	100	100	100	90
متوسط تأثير التراكيز	49.3	100	100	100	
L.S.D 0.05	لمتوسط الفطريات= 1.667 ، لمتوسط التراكيز=1.361 التداخل= 3.339				

كما بينت النتائج ان التراكيز ppm (1000 و 1500 و 2000) اعطت نسبة تثبيط بلغت 100 % وبفرق معنوي عن التركيز 500ppm الذي سجل متوسط نسبة تثبيط بلغت 49.3% .

ان مقدرة $CuSO_4$ على تثبيط الفطريات الملوثة ربما يعود الى التأثير المباشر للنحاس على المركبات النايتروجينية ومنها البروتين وان الاساس في سميته للكائنات الدقيقة هو لمقدرته في تحطيم البروتين، وبما ان الاحياء الدقيقة تحتاج الى تراكيز قليلة من النحاس مقارنة بالنبات فان الزيادة في التراكيز تؤدي الى عدم تحمل هذه الاحياء لعنصر النحاس وتسممها (10).

تأثير المبيد Beltanol بتركيز 62.5 ppm مع $CuSO_4$ بتركيز 500 ppm في تثبيط الفطريات الملوثة

بينت نتائج جدول 5 ان نسب التثبيط باستخدام مبيد Beltanol مع $CuSO_4$ بلغت 100 % مع الفطريات كافة وكان ذلك بسبب العمل التآزري بين المبيد وكبريتات النحاس، وتتوافق هذه الدراسة مع العديد من البحوث في استخدام مبيد Beltanol في مكافحة الامراض الفطرية الذي يعزى الى أنه مبيد فعال ضد مجموعة واسعة من الفطريات المسببة للأمراض وهذه الفعالية ترجع الى تشكيله مركبات مخلبية مع النحاس الموجود في انسجة العائل وبذلك يسهل دخوله الى خلايا الفطر وقتله.

[3] استخدم مبيد Beltanol في مكافحة مسببات الامراض الفطرية الموجودة في التربة مثل Phytophthora و Pythium و Rhizoctonia و Fusarium [24]، وأيضا استخدم هذا المبيد في القضاء على مرض التخميد الذي يصيب الخيار والمتسبب عن الفطر *Phytophthora spp.* *Bani* و *Samir* [4]، تزداد سمية المبيدات عند عملها التأزري مع مركبات أخرى سامة للفطريات اذا توافقت معها Fisher وجماعته [8].

جدول 5: تأثير المبيد Beltanol مع $CuSO_4$ في تثبيط الفطريات الملوثة

الفطريات	% لتثبيط الفطريات
	500 ppm $CuSO_4$+ 62.5 ppm Beltanol
Aspergillus flavus	100
A. niger	100
Cladosporium oxysporum	100
Penicillium digitatum	100
P .expansum	100
Penicillium sp.	100

تأثير المبيد Beltanol بتركيز 125 PPM مع $CuSO_4$ بتركيز 500 PPM في انبات الابواغ

اظهرت نتائج (جدول–6) تأثير مبيد Beltanol مع $CuSO_4$ في تثبيط انبات الفطريات الملوثة وكانت النتائج جميعها قد بلغت 100% ولم يكن هنالك اي انبات بفعل تأثير التآزر بين المبيد وكبريتات النحاس وهذا يتفق مع Yuzbasioglu [28]. إذ اوضح ان بعض المواد في مبيدات الفطريات مثل الكاربامات وكبريتات النحاس تعمل على التمثيل الغذائي للفطريات، وتعد كبريتات النحاس من مبيدات الفطريات واسعة الطيف وشائعة الاستخدام التي تحتوي على النحاس كآيون معدني رئيسي.

جدول 6 : تأثير مبيد Beltanol مع $CuSO_4$ في تثبيط انبات الابواغ

الفطر	نسبة تثبيط انبات جراثيم الفطريات للتخفيف (10^4)
	500 ppm $CuSO_4$+ 62.5 ppm Beltanol
A . flavus	100
Aspergillus niger	100
Cladosporium oxysporum	100
Penicillium digitatum	100
P . expansum	100
Penicillium sp.	100

المصادر

1– Abass, M. H.; U. A. M. Al-Abadi; and A.M.S. Al-Kaby (2007). The efficiency of Henna leaves extracts and some fungicides to reduce the fungal contamination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue culture. Iraqi Journal of Biotechnology. 6(2),21-40.

2– Al-Kaby, A. M. S. (2004). The effect of some antibiotics and fungicides on the growth of embryogenic callus of date palm Phoenix dactylifera L. Basra Journal Date Palm Res.3(1/2),97-110.

3– Al-Machi, S. H. (2014). The Effect of Nutrition Systems and Exchange of Diets on Some Productive Performance of Broilers. Al-Qadisiyah Journal For Agriculture Sciences. 4(2), 40-49.

4– Bani, Y. A. and S. H. Samir (2006). Using different approaches to control cucumber root rot disease caused by Phytophthora drechsleri Tucker. Proceeding 9th Arab Congress of Plant Protection. 19-23 November 2006, Damascus, Syria.

5– Bednarek, P. T. and R. Orłowska (2020). Time of In Vitro Anther Culture May Moderate Action of Copper and Silver Ions that Affect the Relationship between DNA Methylation Change and the Yield of Barley Green Regenerates. Plants, 9(9), 1064.

6– Corkley, I.; B. Fraaije and N. Hawkins (2022). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. Plant Pathology.71(1), 150-169.

7– Dotto, J.; A. O. Matemu and P. A. Ndakidemi (2019). Nutrient composition and selected physicochemical properties of fifteen Mchare cooking bananas: A study conducted in northern Tanzania. Scientific African, 6, e00150.

8– Fisher, M. C.; N. J. Hawkins; D. Sanglard and S. J. Gurr (2018). Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security Science. 360, 739–742.

9– Geiser, D. M., and K. F. LoBuglio (2001). The monophyletic Plectomycetes: Ascosphaerales, Onygenales, Eurotiales. Systematics and Evolution, Part A, 201-219.

10– Guillen, Y. and A. Machuca (2008). The effect of copper on the growth of wood-rotting fungi and a blue-stain fungus. World Journal Microbiol Biotechnol. 24, 31–37 .

11– Hardisson, A.; C. Rubio; A. Baez; M. Martin; R. Alvarez and D. Diaz (2001). Mineral composition of the banana (Musa acuminata) from the island of Tenerife. Food Chemistry. 73(2):153-161.

12– Leifert, C.; J. Y. Ritchie and M. W. Waites (1991). Contaminants of plant tissue and cell cultures. World Journal of Microbiol and Biotechnol. 7, 452–469.

13–	Leifert, C. and A. C. Cassells (2001). Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 37, 133-138
14–	Lontie, R. (2018). Copper Proteins and Copper Enzymes. Volume II, CRC press.266 p
15–	Matrood, A. A. A. and A. Rhouma (2021). Evaluating eco-friendly botanicals as alternatives to synthetic fungicides against the causal agent of early blight of Solanum melongena. Journal of Plant Diseases and Protection.128(6), 1517-1530.
16–	Omamor, I. B.; A. O. Asemota; C. R. Eke and E. I. Eziashi (2007). Fungal contaminants of the oil palm tissue culture in Nigerian institute for oil palm research (NIFOR). African Journal of Agricultural Research. 2(10), 534-537.
17–	Parvin, I.; C. Mondal; S. Sultana; N. Sultana and F. M. Aminuzzaman (2021). Pathological Survey on Early Leaf Blight of Tomato and In Vitro Effect of Culture Media, Temperature and pH on Growth and Sporulation of Alternaria solani. Open Access Library Journal. 8(3), 1-17.
18–	Perrone, G.; M. Haidukowski; Stea G.; F. Epifani; R. Bandyopadhyay; J.F. Leslie and A. Logrieco, (2014). Population structure and Aflatoxin production by Aspergillus Sect. Flavi from maize in Nigeria and Ghana. Food Microbiology.41, 52-59.
19–	Reed, B. M.; P. M. Buckley and T. N. DeWilde (1995). Detection and eradication of endophytic bacteria from micropropagated mint plants. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 31(1), 53-57. doi.org/10.1007/BF02632228.
20–	Rhouma, A.; A. Bousselma; M. S. Mehaoua; M. I. Khrieba and I,H. Bedjaou (2021). Technical document on early blight of tomato. Journal of Global Agriculture and Ecology.11(3), 55-60.
21–	Saitoh, Y.; K. Izumitsu and C. Tanaka (2009). Phylogenetic analysis of heavy-metal ATPases in fungi and characterization of the copper-transporting ATPase of Cochliobolus heterostrophus. Mycological research, 113(6-7),737-745.
22–	Sanchez, C.; D. Moor; G. Robson and T. A. Trinci (2020). 21st century miniguide to fungal biotechnology/ Una miniguía del siglo XXI para la biotecnología de hongos. Mexican Journal of Biotechnology. 5(1):11-42.
23–	Shaaban, Awwad and Nizar Mustafa Al-Mallah (1993) Pesticides. Mosul University Press. 530 pages.
24–	Srobarova, A. and L. Kakalikova (2007). Fungal disease of grapevines. The European Journal of Plant Science and Biotechnology. 1 (1), 84-90.
25–	Suleiman, M. N. and O. M. Omafe (2013). Activity of Three Medicinal Plants on Fungi Isolated from Stored Maize Seeds *(Zea mays L.)*. Global Journal of Medicinal Plant Research. 1,(1), 77-81.
26–	Thorpe, T .(2007) .History of plant tissue culture. Molecular Biotechnology. 37, 169-180.
27-	Wu, F.; D. Bhatnagar; T. Bui-Klimke; I. Carbone; R. Hellmich; G. Munkvold and E. Takle (2011). Climate change impacts on mycotoxin risks in US maize. World Mycotoxin Journal.4(1), 79-93.
28-	Yuzbasioglu, D. (2003). Cytogenetic effects of fungicide Afugan on the meristematic cells of Allium cepa L. Cytologia. 68,237–243.

ISSN: 2790-5306 (Print), 2790-5314 (Online)
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH - Ministry of Agriculture
Available online at: www.ijarmoa.gov.iq
VOL. 27 NO. (1) 2023
IJAR
IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF FUNGI ASSOCIATED WITH TISSUE CULTURES OF BANANA TREE (*Musa acuminata*) AND THE SYNERGISTIC INHIBITORY EFFECT OF BELTANOL AND COPPER SULFATE*

S. S. Hussein[1] A. A. Matrood[1] M. H. Abass[1]

E-mail: abdu1988875@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to find chemicals that completely inhibit fungi contaminating Banana tissue without affecting the plant through the use of chemical fungicide Beltanol and copper sulfate and their interactions. Through the course of research fungi were isolated and identified from tissue cultures belonging to the Grand 9 banana plant, as six fungal species were isolated: *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Cladosporium oxysporum, Penicillium digitatum, Penicillium expansum, and Penicillium sp.*Some fungal inhibitors such as Beltanol and copper sulphate showed good efficacy against isolated fungi, where Beltanol showed the highest inhibition rate, reaching 100% for all the fungi under study at concentrations 250, 500, and 1000 ppm, except for concentration 62.5 ppm, as the average effect of the concentration reached all fungi 48%, and copper sulphate showed 100% inhibition at concentrations 1000, 1500 and 2000 ppm with all fungi, while at a concentration of 500 ppm it had the highest inhibition with fungus A. flavus with a rate of 66% and the least inhibition was with the fungus C. oxysporum with an inhibition rate of 30%. The study showed the synergistic effect between the pesticide Beltanol 62.5 ppm, and copper sulfate 500ppm that the use of the lowest concentrations and in a synergistic manner gave 100% inhibition rates for all fungi contaminating tissue cultures and also in the germination of their spores. Copper sulfate 500 ppm that the use of the lowest concentrations in a synergistic manner gave 100% inhibition rates for all fungi contaminating tissue cultures and also in the germination of their spores.

Keywords: Banana, Platanol pesticide, Copper sulfate, Aspergillus, Penicillium

*** A part of the M.Sc. Thesis of the first author**

[1]College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq

Received:/February 14, 2023
Accepted: May 10, 2023