تقييم كفاءة بعض العوامل الكيميائية والأحيائية في مكافحة مرض تعفن جذور اللوبياء *Vigna unguiculata* (L.)Walp

صفاء نعمت حسين

الملخص

هدف البحث الى عمل تشخيص مسبب مرض تعفن جذور نبات اللوبياء في ثلاث محافظات عراقية، وهي القادسية وبابل وديالى فضلاً عن تقويم مقدرته الأمراضية ومكافحته باستعمال بكتريا **Bacillus cereus** (**Bc**) وبكتريا ***Pantoea agglomerans*** (**Pa**) المعزولة من المحيط الجذري لنبات اللوبياء السليمة وعنصري السيلكون (**Si**) والنحاس (**Cu**). أظهرت النتائج ان الفطر ***Fusarium solani*** الأكثر ظهورا في العينات بنسبة ٨٢.٢% وبمعدل نسبة تكرار ٥٢.٧%. وكانت العزلة **Bfs-7** اشد ضراوة بين اربع واربعين عزلة اذ منعت انبات البذور بالكامل مقارنةً بمعاملة السيطرة. تم عزل ٣٨ عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات لوبياء سليمة، اظهرت العزلتان البكترية **D6** و**Q10** نسبة تثبيط ١٠٠% للفطر الممرض **F. solani** على الوسط الزرعي اكار البطاطا **PDA**، واظهرت نتائج التشخيص بتقنية **Vitiq2 Compact System** انها تعود الى البكتريا ***B. cereus*** و***P. agglomerans*** وهي من البكتريا النافعة في التربة. وتحت ظروف البيت الزجاجي تفوقت معاملة اللقاح الرباعي **Bc+ Pa+ Si+ Cu** في مكافحة مرض تعفن جذور اللوبياء، إذ بلغت نسبة انبات البذور فيها ١٠٠.٠% قياساً الى معاملة السيطرة السالبة (الفطر بمفرده) البالغتين ٥٢.٥%، وبلغت نسبة الإصابة وشدته ٧.٥% و١.٠% على التوالي قياساً الى السيطرة السالبة البالغتين ٩٥.٠% و٧٠.٥% على التوالي. كما اظهرت اعلى زيادة في معايير نمو النبات متمثلة بالوزن الجاف التي بلغت ٢.٠٣ غم/ نبات قياساً الى معاملين السيطرة السالبة والموجبة البالغتين ٠.٨٨ و١.٧٦ غم/نبات .

المقدمة

تعد اللوبياء **Vigna unguiculata (L.)Walp** من بين اهم محاصيل العائلة البقولية في العالم، بلغ إجمالي الإنتاج في العراق **56.714** طناً لعام ٢٠١٤ (**15**). يتعرض محصول اللوبياء للإصابة بعدد من المسببات المرضية من بينها الفطر **Fusarium solani** الذي يعد من فطريات التربة الواسعة الانتشار، إذ يصيب مدى واسع من العوائل النباتية في مناطق كثيرة ومختلفة من العالم مسبباً امراض موت البادرات وتعفن الجذور وقواعد السيقان، ويعد من أحد العوامل المحددة لزراعة المحصول في معظم دول العالم (٤، ٨). وهو فطر اختياري التطفل يعيش مترمماً على بقايا النباتات والمواد العضوية الأخرى في التربة، يهاجم الفطر عادة لحاء جذور العائل (٦)، ويكون الفطر ثلاثة انواع من الابواغ، ابواغ كونيدية صغيرة **Microconidia** اهليليجية الشكل وقسم منها اسطوانية الى بيضوية تنتج من **Monophielides** طويلة تحمل جانبياً على غزل فطري هوائي وابواغ كونيدية كبيرة **Macroconidia** مغزلية غير متماثلة متغايرة في ابعادها والنوع الثالث من الابواغ هو **Chlamydospores** التي تنتج مفردة او متعددة في فروع جانبية صغيرة، او وسط الغزل الفطري، يكون غزل فطري ابيض الى رمادي اللون على الوسط الزرعي (٧).تظهر الأعراض المميزة للمرض اعتماداً على الظروف البيئية وعمر النبات عند الإصابة ، وتظهر أعراض تعفن في قواعد السيقان وقشرة الجذور على النباتات البالغة يتبعها اصفرار المجموع الخضري بعدما تكون قد تمكنت من تدمير

الجامعة المستنصرية، كلية الهندسة، بغداد، العراق.

المجموع الجذري وتظهر علامات الذبول خلال الأوقات عالية الحرارة من اليوم، كما انها تصيب النباتات في مراحل مختلفة من نموها وتسبب موت النباتات بالنهاية (٢٥).استخدمت الطرائق الكيميائية لمكافحة المرض لكنها ضارة بالبيئة، فضلاً عن إن الكثير من المبيدات الكيميائية الفعالة حضر استعمالها عالمياً مثل بروميد المثيل (١). اتجه الباحثون إلى استخدام الاحياء المجهرية المضادة الصديقة للبيئة (١٤) واستعمال بعض العناصر الكيميائية في مكافحة امراض النبات. اجريت هذه الدراسة لتشخيص الفطر المسبب لمرض تعفن جذور اللوبياء في محافظات من المنطقة الوسطى والجنوبية من العراق، ومقاومتها كيميائياً بعنصري السيلكون والنحاس وحيوياً باستخدام بكتريا حرة المعيشة عزلت من منطقة جذور نباتات لوبياء سليمة واختبار قابليتها التضادية للفطر الممرض.

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور اللوبياء

جمعت عينات من جذور نباتات لوبياء تبدو عليها أعراض المرض التي تمثلت باصفرار متدرج لاسيما على أوراق النباتات القديمة وتيبس بعضها وتعفن الجذور وتلونها بلون بني (١٠) من حقول في محافظات القادسية وديالى وبابل (جدول ١). غسلت أجزاء من عينات الجذور بالماء الجاري لمدة ١٥ دقيقة وقطعت الى أجزاء صغيرة بطول ٠.٥ سم وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم ٢% لمدة دقيقتين. غسلت القطع بالماء المقطر المعقم وجففت بورق ترشيح معقم. زرع كل اربع قطع على وسط البطاطا دكستروز أعد (**PDA**) في اطباق بتري قطر ٩ سم، بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (١٢١م° وضغط ١.٥كغم/سم^{٢} لمدة ٢٠ دقيقة) أضيف اليه المضاد الحيوي **Amoxicillin** بتركيز ٢٠٠ملغم/لتر وحضنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٥±١ م° لمدة ٥ أيام، بعدها فحصت الأطباق ونقيت العزلات الفطرية النامية على الوسط الزرعي وحضنت لمدة ٧ أيام. فحصت العزلات النامية تحت المجهر الضوئي على قوة التكبير**X10** و**X٤٠** وشخصت الى مستوى الجنس والنوع اعتماداً الصفات المزرعية والمظهرية وبإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة في كل من **Domasch** و**Gams (12)** وحسبت النسبة المئوية لظهور الفطر وتكراره على ضوء المعادلات التالية (١٦، ١٧).

% للظهور = عدد مرات ظهور الجنس أو النوع في العينات/ العدد الكلي للعينات × ١٠٠

% لتكرار الفطر في العينة = عدد القطع النباتية التي ظهر فيها الفطر في الاطباق/ العدد الكلي للقطع المستعملة في العينة × ١٠٠

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر F. solani باستعمال بذور اللوبياء

اختبرت المقدرة الامراضية لأربع واربعين عزلة من الفطر **F. solani** على الوسط الزرعي **Water Agar** المعقم بجهاز بالمؤصدة. وبعد تبريده أضيف اليه المضاد الحيوي **Amoxicillin** بمقدار ٢٠٠ ملغم/لتر ورج جيداً بعدها صب في أطباق بتري قطر **9**سم بمقدار **15-20** مل/طبق. لقحت الاطباق في مركزها بقرص قطر **0.5** سم من عزلات الفطر **F. solani** المنماة على الوسط الزرعي **PDA** بعمر ٧ ايام كلاً على انفراد. حضنت الاطباق في درجة حرارة **25±1** م° لمدة يومين، بعدها زرعت ١٥ بذرة/طبق من بذور اللوبياء المحلية معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم ٢% لمدة دقيقتين ومجففه بورق ترشيح معقم اختبرت نسبة إنباتها ، ووزعت بصورة دائرية قرب حافة الطبق وبأربعة مكررات لكل معاملة فضلاً عن معاملة السيطرة المتمثلة بزراعة البذور فقط من دون الفطر. تم وضع الاطباق في حاضنة في درجة حرارة **25±1** م° لمدة ١٤ يوم. سجلت النتائج لحساب نسبة الانبات (٥).

جدول 1: التوزيع الزماني والمكاني لعينات جذور اللوبياء

رقم العينة	المنطقة	الجمع
1	القادسية – الشنافية ١	٢٠١٦/٩/٤
2	القادسية – الشنافية ٢	٢٠١٦/٩/٤
3	القادسية – الشامية	٢٠١٦/٩/٥
4	القادسية – المهناوية	٢٠١٦/٩/٥
٥	بابل – الشوملي ١	٢٠١٦/٩/١٥
٦	بابل – الشوملي ٢	٢٠١٦/٩/١٥
٧	بابل – النيل ١	٢٠١٦/٩/١٥
٨	بابل – النيل ٢	٢٠١٦/٩/١٥
٩	ديالى – الخالص	٢٠١٦/٩/٢٢
١٠	ديالى – خانقين ١	٢٠١٦/٩/٢٣
١١	ديالى – خانقين ٢	٢٠١٦/٩/٢٣
١٢	ديالى – خامقين ٣	٢٠١٦/٩/٢٣

عزل وتشخيص البكتريا المرافقة لجذور نباتات اللوبياء السليمة

جمعت عينات من جذور نباتات لوبياء سليمة مع التربة العالقة بها من بعض حقول اللوبياء في محافظات القادسية وديالى وبابل. عزلت البكتريا باستعمال تخافيف لعينات التربة العالقة بجذور نباتات اللوبياء السليمة، أضيف ١ مل من عالق التربة الى أنابيب اختبار معقمة تحتوي على ٩مل من الوسط الزرعي السائل المعقم **Nutrient broth**، حضنت الأنابيب في درجة حرارة 28±2م° لمدة يومين. أخذت مسحة من الانابيب ونشرت بطريقة التخطيط على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي الصلب المعقم **Nutrient Agar** وحضنت الأطباق الملقحة بالبكتريا في درجة حرارة 28±2 م° لمدة ٢٤ساعة وكررت عملية تنقية العزلات البكتيرية لمرات عديدة (١٨).

اختبار المقدرة التضادية للعزلات البكترية ضد الفطر الممرض F.solani

تم اختبار المقدرة التضادية لثماني وثلاثين عزلة بكتيرية تم عزلها من المحيط الجذري لنباتات لوبياء سليمة ضد العزلة **Bfs-7** من الفطر **F. solani** بطريقة تسميم الوسط الزرعي بإضافة ١ مل من عالق كل عزلة بكتيرية على انفراد منماة في الوسط الزرعي **Nutrient broth** بعمر ٣ أيام الى اطباق بتري معقمة وصب فوقها ١٥–٢٠ مل من الوسط الزرعي **PDA** المعقم وحركت الاطباق لتجانس اللقاح البكتيري في الوسط الزرعي. لقح مركز الاطباق بالعزلة الفطرية **Bfs-7** بوضع قرص قطر ٠.٥سم من حافة مستعمرة الفطر النامية على الوسط الزرعي **PDA** عمر ٧ أيام (١٧). كررت كل معاملة ٤ مرات وتركت ٤ أطباق دون أضافة اللقاح البكتيري كمعاملة سيطرة. حضنت الأطباق في درجة حرارة ٢٥±١م° وحسبت النسبة المئوية للتثبيط بعد وصول نمو الفطر في معاملة السيطرة الى حافة الاطباق وبحسب المعادلة التالية (١٩):

% للتثبيط =(متوسط قطر مستعمرة السيطرة – متوسط قطر مستعمرة المعاملة)/متوسط قطر مستعمرة السيطرة× ١٠٠

تشخيص العزلات البكترية المضادة لنمو الفطر الممرض

تم اجراء اختبار صبغة كرام للعزلات البكتيرية الاربعة التي اعطت نسبة تثبيط ١٠٠% للفطر الممرض **F. solani** واكدت النتائج بتنمية العزلات البكتيرية على الوسط الزرعي التفريقي **MacConkey Agar** من انتاج شركة **Oxoid** البريطانية وهو وسط لتفريق البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام اذ تستجيب الاولى ايجابياً بأعطاء نمو بكتيري في حين لاتستجيب الثانية بالنمو على هذا الوسط (٢٤) وحضنت عند درجة حرارة 28±2 م° لمدة ٤٨ ساعة لتمييز العزلات السالبة والموجبة لصبغة كرام، تمهيداً لتشخيص العزلات البكتيرية الاربعة باستعمال تقانة **Vitek 2 Compact System** انتاج شركة **Biomerieux** الفرنسية في وزارة الصحة العراقي/ مختبر الصحة المركزي ، وباستعمال عدة قياسية **Kits** من انتاج الشركة المذكورة آنفاً يتضمن الـ **Kits** بطاقات كاشفة **Reagent Cards** متخصصة وهي **GN Card** متخصصة لاختبار مجاميع البكتريا السالبة لصبغة كرام و **GP Card** متخصصة لاختبار مجاميع البكتريا المكورة الموجبة لصبغة كرام و **BCL Card** لاختبار البكتريا الموجبة المكونة للابواغ **Bacilli**.

مكافحة مرض تعفن جذور اللوبياء كيميائياً وأحيائياً تحت ظروف البيت الزجاجي

حضر لقاح العزلة الممرضة **Bfs-7** للفطر **F. solani** بتنميتها على بذور الدخن المحلي، بأضافة ٥ اقراص قطر **0.5**سم من الفطر الممرض المنمى على الوسط الزرعي **PDA** عمر ٧ ايام الى دوارق زجاجية سعة ٢٥٠ مل تحتوي على بذور الدخن المضاف له ١٠ مل ماء مقطر تم تعقيمها عند على درجة حرارة ١٢١م° وضغط ١.٥كغم/سم^{2} لمدة ٢٠ دقيقة وليومين متتاليين وحضنت لمدة ١٤ يوماً. اضيف اللقاح الى تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل (٥٠٠غم/م^{3}) في أصص سعة ١كغم تربة بنسبة ١% (وزن/وزن). زرعت عشربذور لوبياء في كل أصيص صنف بيادر معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم ١%. كانت المعاملات السيطرة الموجبة النبات بمفرده، السيطرة السالبة الفطر **Bfs-7** بمفرده، بكتريا **Bacillus cereus** (**Bc**) بمفردها، بكتريا **Pantoea agglomerans** (**Pa**) بمفردها، عنصر **Cu** بمفرده، عنصر **Si** بمفرده، **Bc + Bfs-7** ، **Pa + Bfs-7** ، **Bfs-7 + Si** ، **Bfs-7 + Cu** ، **Bfs-7 + Pa + Bc** ، **Bfs-7 + Si + Bc** ، **Bfs-7 + Cu + Bc** ، **Bfs-7 + Cu + Pa** ، **Bfs-7 + Si + Pa + Bc** ، **Bfs-7 + Cu + Si** ، **Bfs-7 + Cu + Pa + Bc** ، **Bfs-7 + Cu + Si + Pa** ، **Bfs-7 + Cu + Si + Bc** ، **Bfs-7 + Cu + Si + Pa + Bc**. وزعت الأصص حسب التصميم تام التعشية وبأربعة مكررات لكل معاملة سقيت الأصص بعناية وغطيت بأكياس بولي أثيلين مثقبة لمدة ٧٢ ساعة وتم حساب نسبة الأنبات بعد ٧ أيام والنسبة المئوية للأصابة بعد ٤٠ يوم من الزراعة. حسبت شدة المرض في الجذور وفق الدليل المرضي ٠ = جذور سليمة خالية من الأعراض المرضية و١ = تلون طفيف في الجذور بلون بني فاتح و٢= تلون أقل من نصف المجموع الجذري بلون بني فاتح و٣ = تلون أكثر من نصف المجموع الجذري بلون بني و٤ = تلون معظم المجموع الجذري بلون بني قاتم و٥ = تلون كلي للجذور بلون بني قاتم او موت النبات (٢٦)، وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض حسب معادلة **Mckinney** (٢٣).

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور اللوبياء

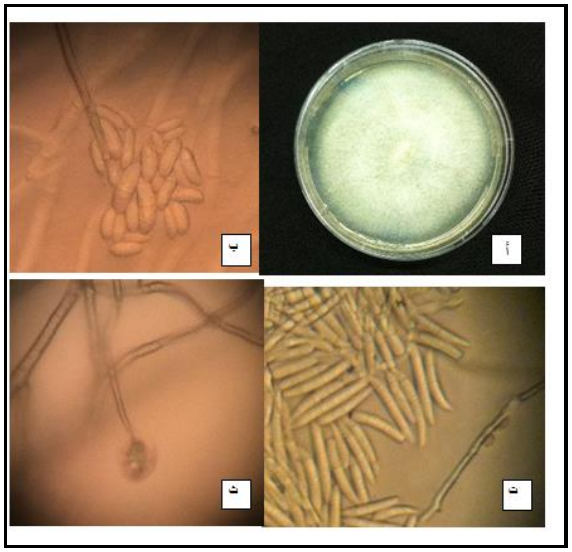
أظهرت نتائج العزل والتشخيص ظهور عدد من الفطريات، وكانت السيادة للفطر **F. solani** إذ بلغ معدل ظهوره في العينات ٨٢.٢% و بمعدل نسبة تكرار ٥٢.٧% (جدول ٢). ربما يرجع السبب الى تراكم ابواغ الفطر

وخاصة الابواغ الكلاميدية التي تبقى حية في التربة لسنوات عديدة بغياب العائل ولعدم اتباع الدورات الزراعية ولاستعمال بذور ملوثة بالفطر الممرض، كما وقد يكون انتقال جراثيم الفطر الممرض مع ماء الري سبب في انتشار المرض بين الحقول (٣، ٢٨).

جدول ٢: العزلات الفطرية المرافقة لجذور اللوبياء المصابة في حقول محافظات القادسية وديالى وبابل

الفطر	الظهور (%)	التكرار (%)
Aspergillus flavus Link ex Gray	٢٠.٠	١٦.٦
Aspergillus niger Van Tieghem	٣١.١	٢٣.٨
Fusarium oxysporum Schlesht	١٥.٥	١٩.٤
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	٨٢.٢	٥٢.٧
Fusarium sp.	١٧.٧	١٥.٠
Pencillium sp.	٢٦.٦	٢٠.٠
Rhizctonia solani (Kuhn)	٢٤.٤	٢٥.٠
Rhizopus sp.	٤٠.٠	٣٦.٦
Pythium aphanidermatum (Edson) Fitz	٢٢.٢	١٥.٠

أظهر الفطر **F. solani** غزل فطري ابيض الى كريمي اللون على الوسط الزرعي **PDA** مع افراز صبغة صفراء الى بنية تظهر واضحة من الجهة السفلى للطبق (صورة ١)، واظهر الفحص المجهري الابواغ الكونيدية الصغيرة للفطر (**Microconidia**) كلوية الشكل غير مقسمة وبعضها مقسم بحاجز الى خليتين تنتج من **Monophilides** طويلة وابواغ كونيدية كبيرة (**Macroconidia**) مغزلية الشكل ومقسمة بحواجز عرضية عددها ١-٧ (٦، ٢٠).



صورة ١: الصفات المزرعية والمجهرية للفطر **Fusarium solani** .

(أ) مستعمرة الفطر على الوسط الزرعي **PDA** بعمر ٧ أيام ؛ (ب) ابواغ كونيدية صغيرة **Microconidia** ؛ (ت) ابواغ كونيدية كبيرة **Macroconidia** ؛ (ث) حامل كونيدي طويل من نوع **Monophialides**

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر F. solani

اظهرت النتائج تباين عزلات الفطر **F. solani** في مستوى امراضيتها إذ أحدثت العزلات جميعاً خفضاً معنوياً في نسبة انبات بذور اللوبياء، تراوحت نسبة الانبات في المعاملات بين ٠ –٨٣% قياسا بمعاملة السيطرة من دون اضافة الفطر الممرض التي بلغت نسبة الأنبات فيها ١٠٠%(جدول ٣). تفوقت العزلة **Bfs-7** على بقية العزلات اذ منعت انبات البذور بالكامل. قد يعزى سبب التباين في المقدرة الامراضية لهذه العزلات الفطرية الى التغيير الوراثي بين افراد النوع لاسيما انها معزولة من مناطق مختلفة. وانتاج الانزيمات المحللة للبكتين والسليلوز يؤدي الى تعفن البذور ومنعها من الانبات (٩).

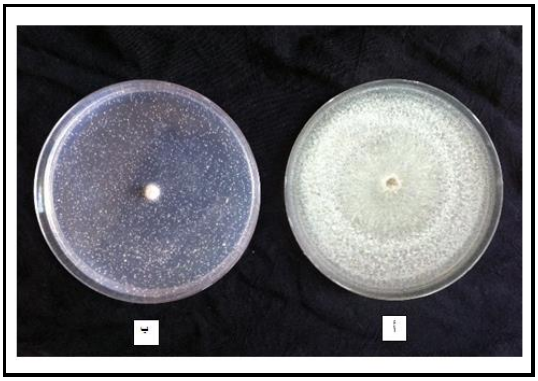
جدول ٣: الكشف عن العزلات الممرضة للفطر F. solani بأستعمال بذور اللوبياء

رمز العزلة	الأنبات %	رمز العزلة	الأنبات %	رمز العزلة	الأنبات %
السيطرة	١٠٠	Dfs-5	٨٣	Dfs-20	٢١
Bfs-1	٤٠	Dfs-6	٦٥	Dfs-21	٣١
Bfs-2	٧٠	Dfs-7	٥٣	Dfs-22	١٤
Bfs-3	٢٦	Dfs-8	٣٥	Qfs-1	٢٤
Bfs-4	٨٠	Dfs-9	٥٤	Qfs-2	٢٥
Bfs-5	٥٥	Dfs-10	٧٦	Qfs-3	٤٦
Bfs-6	٥٥	Dfs-11	٤٠	Qfs-4	٣٥
Bfs-7	٠	Dfs-12	٤٤	Qfs-5	١٥
Bfs-8	٨٣	Dfs-13	٤١	Qfs-6	١٩
Bfs-9	٤٣	Dfs-14	٣٥	Qfs-7	١٩
Bfs-10	٤٦	Dfs-15	٢٣	Qfs-8	٢١
Dfs-1	٥٠	Dfs-16	٢٨	Qfs-9	١٣
Dfs-2	٦١	Dfs-17	٧٦	Qfs-10	٣٨
Dfs-3	٣٥	Dfs-18	٣٣	Qfs-11	٧٦
Dfs-4	٥٥	Dfs-19	٢٥	Qfs-12	٨٠
LSD (٥%) =	٨				

*كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

اختبار المقدرة التضادية للعزلات البكترية ضد الفطر *Fusarium solani*

تم عزل ٣٨ عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات لوبياء سليمة، تفوقت عزلتان بكتيرية وهي **D6** و**Q10** في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض **Bfs-7** بنسبة ١٠٠% وبحسب طريقة تسميم الوسط الزرعي مقارنةً بمعاملة السيطرة التي ملئت الطبق بعد ٧ أيام من الحضن (صورة ٢).



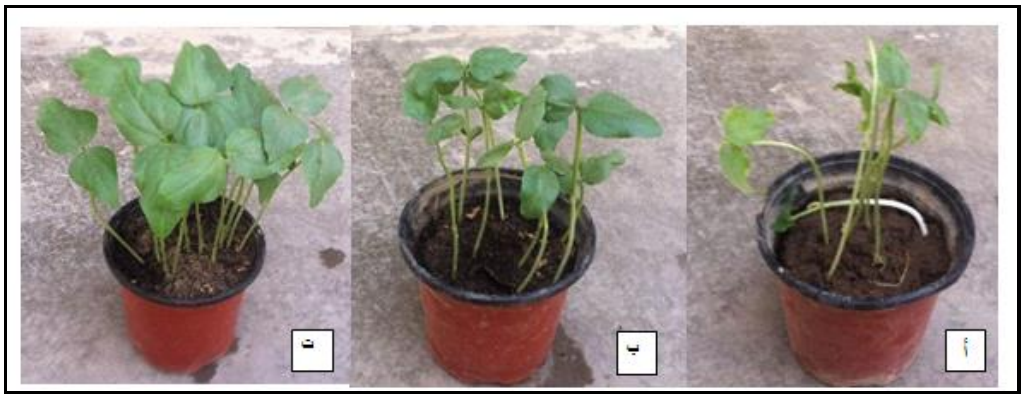
صورة ٢: التضاد بين الفطر **F.solani** والعزلة البكتيرية **Q10** بطريقة تسميم الوسط الزرعي.
أ. مستعمرة الفطر **F. solani** بمفرده ؛ ب. الفطر **F. solani+** العزلة البكترية **Q10**.

تشخيص عزلات البكتريا التي أظهرت قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض

أظهرت نتائج التصبيغ للعزلتين البكترية **D6** و**Q10** اللتين اظهرتا نسبة تثبيط ١٠٠% ضد الفطر الممرض ***F. solani*** مختبرياً، ان العزلة **D6** موجبة لصبغة كرام و العزلة **Q10** سالبة لصبغة كرام، واظهرت نتائج التشخيص باستعمال تقانة **Vitek2 Compact System** ان العزلة **D6** تعود للبكتريا ***Bacillus cereus*** والعزلة **Q10** تعود الى البكتريا ***Pantoea agglomerans*** . لبعض هذه الانواع تطبيقات زراعية في مجال المكافحة الاحيائية لأمراض النبات عالمياً ، إذ اشار **Chan** وجماعته (١١) الى ان القابلية التضادية لبكتريا ***B. cereus*** ضد الفطر الممرض ***F. gramineaum*** في الذرة والقمح يعزى الى انتاج البتيدات الدهنية ، كما اشار **Cao** وجماعته (٩) الى ان قابلية بكتريا ***B. cereus*** في حماية نباتات الخيار ضد الفطر الممرض ***F. imparted*** يعود الى افراز البكتريا للمضادات الحيوية **Bacillomycin** و**Fengycin**. كما اثبت **Liu** واخرون (٢٢) فعالية بكتريا ***Pantoea agglomerans*** في مكافحة مرض الذبول الفيوزارمي المتسبب بواسطة الفطر ***F. oxysporium*** على نباتات الجرجير فضلاً عز زيادة معايير النمو.

مكافحة مرض تعفن جذور اللوبياء كيميائياً وأحيائياً تحت ظروف البيت الزجاجي

اظهرت النتائج تفوق معاملة اللقاح الرباعي (**Cu +Si +Pa +Bc**) في مكافحة الفطر الممرض ***F. solani*** تحت ظروف البيت الزجاجي، اذ بلغت نسبة الانبات ١٠٠.٠% قياساً الى معاملة السيطرة السالبة (الفطر الممرض بمفرده) التي بلغت نسبة الانبات عندها ٥٢.٥% كما بلغت نسبة الأصابة وشدتها في معاملة اللقاح الرباعي (**Cu +Si +Pa +Bc**) ٧.٥% و ١% على التوالي قياساً الى معاملة السيطرة السالبة التي بلغت ٩٥.٠% و٧٠.٥% على التوالي (جدول ٤). تلتها معاملة اللقاح الثلاثي **Si +Pa +Bc** والتي بلغت عندها نسبة الانبات ونسبة الاصابة وشدتها ٨٢.٥% و ٤٧.٥% و ٤٤.٠% على التوالي. كما اثر بعض المعاملات في تحسين معايير نمو النبات من خلال زيادة الوزن الجاف للنبات، اذ كانت ٢.٠٣ غم/نبات في معاملة اللقاح الرباعي **Bc+ Cu +Si +Pa** وبفارق معنوي عن معاملة السيطرة السالبة والموجبة والتي بلغ معدل الوزن الجاف في معاملاتها ٠.٨٨% و ١.٧٦% على التوالي (صورة ٣). وتشير الدراسات السابقة الى ان اغلب الاعراض التي تظهر على النباتات نتيجة اصابتها بالفطر الممرض **F. solani** سببها افراز الفطر سموماً تنتقل الى المجموع الجذري ومن هذه السموم **Fusaric acid** و **Javanic acid** و **Polpeptide toxin** و **Anhydro fusarbin** (٢١، ٢٧). وتتفق هذه النتائج مع ما وجده **Alejandro** وجماعته (٢) اذ اثبت تفوق بكتريا **Bacillus cereus** في تثبيط الفطر الممرض **F. verticillioides** على الذرة ، كما اثبت **Dutkiewics** وجماعته (١٣) ان بكتريا **Pantoea agglomerans** تعد من انواع البكتريا النافعة ولها دور كبير في مكافحة مسببات الامراض النباتية وذلك لانتاجها المضادات الحيوية (**Herbicolin**، **pantoocins**، **microcin**، **agglomerins**، **andrimid**، **phenazine**). وتتفق هذه النتائج مع **Alejandro** وجماعته (٢) الذي اثبت ان الترب المضافة لها عنصر السليكون عززت من مقاومة النباتات ضد امراض تعفن الجذور والذبول المتسببة بواسطة فطريات ***Fusarium*** و ***Pythium*** و ***Rhizoctonia*** .



صورة ٣: مكافحة مرض تعفن جذور اللوبياء تحت ظروف البيت الزجاجي.

أ. معاملة السيطرة السالبة (الفطر بمفرده)؛ ب. معاملة السيطرة الموجبة (النبات بمفرده)؛ ت. معاملة اللقاح الرباعي (Cu+Si+Pa+Bc).

جدول ٤: مقاومة مرض تعفن جذور اللوبياء تحت ظروف البيت الزجاجي

المعاملة	الانبات (%)	نسبة الإصابة (%)	شدة المرض (%)	الوزن الجاف غم/نبات
السيطرة الموجبة النبات بمفرده	١٠٠.٠	٠.٠	٠.٠	١.٧٦
السيطرة السالبة الفطر Bfs-7 بمفرده	٥٢.٥	٩٥.٠	٧٠.٥	٠.٨٨
بكتريا Bc بمفرده	١٠٠.٠	٠.٠	٠.٠	١.٧٨
بكتريا Pa بمفرده	١٠٠.٠	٠.٠	٠.٠	١.٧٢
عنصر Cu بمفرده	١٠٠.٠	٠.٠	٠.٠	١.٨١
عنصر Si بمفرده	١٠٠.٠	٠.٠	٠.٠	١.٨٦
Bc + Bfs-7	٥٥.٠	٥٥.٠	٣٧.٣	٠.٩٥
Pa + Bfs-7	٥٧.٠	٦٠.٠	٣٩.٠	١.٠٧
Si + Bfs-7	٦٢.٥	٨٠.٠	٦٤.٥	٠.٩٥
Cu + Bfs-7	٦٠.٠	٧٧.٥	٦٣.٠	٠.٩٩
Pa +Bc + Bfs-7	٧٥.٠	٥٢.٥	٤٢.٣	١.٥٨
Si +Bc + Bfs-7	٧٠.٠	٦٥.٠	٤٨.٣	١.٤٠
Cu +Bc + Bfs-7	٧٢.٥	٦٠.٠	٤٦.٣	١.٣٦
Si +Pa + Bfs-7	٦٥.٠	٥٢.٥	٤٥.٠	١.٢٢
Cu +Pa + Bfs-7	٦٧.٥	٥٥.٠	٤٩.٨	١.٥٧
Cu +Si + Bfs-7	٥٥.٠	٧٠.٠	٥٤.٨	٠.٩٨
Si +Pa +Bc + Bfs-7	٨٢.٥	٤٧.٥	٤٤.٠	١.٢٨
Cu +Pa +Bc + Bfs-7	٨٠.٠	٥٠.٠	٤٥.٣	١.٤٩
Cu +Si +Bc + Bfs-7	٦٧.٥	٥٥.٠	٥٠.٨	١.٢٤
Cu +Si +Pa + Bfs-7	٦٥.٠	٥٧.٥	٥١.٥	١.١٢
Cu +Si +Pa +Bc + Bfs-7	١٠٠.٠	٧.٥	١.٠	٢.٠٣
LSD (٥%) =	٢.٣	١٩.٥	٢٢.٠	٠.٣٧

*كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

المصادر

1 - Ajwa, H. A.; S. Klose; S. D. Nelson; A. Minuto; M. L. Gullino; F. Lamberti and J. M. Lopez-Aranda (2003). Alternatives to methyl bromide in strawberry production in the United States of America and the mediterranean region. Phytopathology Me-diterr., 42: 220-244.

2 -Alejandro, M.;J. Ramírez; J. Álvarez; M. Meyer;G. Sánchez; R. Gastélum; C. Martínez and I. Mendoza (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of Fusarium verticillioides. Figueroa-López et al. SpringerPlus (2016) 5:330. DOI 10.1186/s40064-016-1780-x

3-Al Mousawi, M. A. and K. S. Juber (2012). Isolation and identification of the pathogen causing root and stem rot disease on cowpea and evaluation of the Azotobacter vinelandii efficacy for controlling the disease under labrotary condetions. The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 43(2): 67-75.

4- Aoki, T.; K. O'Donnell; Y. Homma; A. Lattanzi (2003). Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the Fusarium solani species complex F. virguliforme in North America and F. tucumaniae in South America. Mycologia, 95(4): 660–684.

5-Bolkan, H. H. and E. E. Butler (1974). Studies on heterokaryosis virulence of Rhizoctonia solani . Phytopathology, 64: 513–522.

6-Booth, C. (1971). The Genus Fusarium, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK, 237 pp.

7-Booth, C. (1977). Fusarium: Laboratory Guide to The Identification of The Major Species. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK, 58 pp.

8-Brasileiro, B. T. R.; M. R. M. Coimbra; M.A.M. Jr and N. T. Oliveira (2004). Genetic variability within Fusarium solani species as revealed by PCR-Finger-Printing based on PCR markers. Brazillian Jornal of Microbiology, 35: 205-210.

9-Cao, Y.; Z. H Xu; N. Ling; Y.J. Yuan;X.M. Yang; L.H. Chen; B. Shen and Q.R. Shen (2013). Isolation and identification of lipopeptides produced by B. subtilis SQR 9 for suppressing Fusarium wilt of cucumber. Scientia Horticulturae, 135, 32-39. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.002

10-Champaco, E. R.; R. D. Martyn and M. E. Miller (1993). Comparison of Fusarium solani and F. oxysporum as causal agents of fruit rot and root rot of muskmelon. Hortic. Sci., 28:1174-1177.

11-Chan, Y. K.; M. E. Savard; L. M. Reid; T. Cyr; W.A. McCormick and S. Charles (2009). Identification of lipopeptide antibiotics of a Bacillus subtilis isolate and their control of Fusarium graminearum diseases in maize and wheat. BioControl, 54:567-574. http://dx.doi.org/10.1007/s10526-008-9201-x

12-Domasch, K. H. and W. Gams (1980).Compendium of Soil fungi. p. 1227-1229. Academic Press. A subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers .

13-Dutkiewicz, J.; B. Mackiewicz; M. Lemieszek; M. Golec and J. Milanowski (2016). Pantoea agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good.

Part IV. Beneficial effects. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 23(2): 206–222

14-Eilenber, J.; A. Hajek and C. Lomer (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl,46:387–400.

15-FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2017.http://faostat3.fao.org/faostat-gateway

16-Ganzalez, H. H. L.; S. L. Resnik; R. T. Boca and W. F. O. Marasas (1995). Mycoflora of agrentinian corn harvested in the main production area in 1990. Mycopa- thologia., 130:29-36.

17-Hussein, S. N. and K. S. Juber (2014). First report of identification Fusarium solani f. sp. cucurbitae race 1 and 2 the causal agent of crown and root rot disease of watermelon in Iraq. J. Int. Agr. Inno. and Res. 3: 2319-1473.

18-Hussein, S. N. and K. S. Juber (2015). Identification of the causal agent of crown and root rot disease of watermelon and efficiency of disease control under greenhouse conditions. The Iraqi Journal of Agricultural Sci., 46(1): 11-20

19-Katon, J. and A. Gamliel (1993). Suppression of major and minor pathogens by Pseudomonos florescens in solarized and non-solarized. Soil Phyto.,83: 68-75.

20-Leslie, J. F. and B. A. Summerell (2006).The Fusarium Laboratory Manual, Blackwell Publishing, Ames, IA, USA. 388pp.

21-Li, S. X.; G. L. Hartman; B. S. Lee and J. W. Widholm (2000). Identification of a stress-induced protein in stem exudates of soybean seedlings root infected with Fusarium solani f. sp glycines. Plant physiology & Biochemistry, 38:803-809.

22-Liu, W.; Z. Chen; T. Zhang; C. Lu; D. Dong; H. Wu and D. Zhang (2014). Application of Pantoea agglomerans strain Z01 to control Fusarium wilt and its effect on the quality parameters of rockets. Ann Microbiol. 64: 1443-1446. https://doi.org/10.1007/s13213-013-0735-5

23-McKinney, H. H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by Helminthosporium sativum. J. Agric. Res.,26:195-218.

24-Miller, J. H. (1992). A Short Course in Bacterial Genetics: A Laboratory Manual for Escherichia coli and Related Bacteria. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY,USA. 456.

25-Moses, R. T.(2006). Biological and chemical control of fungal seedling diseases of cowpea. University of Pretoria, 67 pp.

26-Nagao, H., K. Sato and S. Ogiwara, 1994. Susceptibility of Cucurbita spp. to the cucurbit root-rot fungus, Fusarium solani f. sp. cucurbitae race 1. Agronomie. 2: 95-102.

27-Nelson, B. D.; J. M. Hansen, C. E. Windels and T. C. Helms (1997). Reaction of soybean cultivars to isolates of Fusarium solni from the Red River Valley. Plant Dis., 81:664-668.

28-Wannas, R. A. (2011). Isolation and Diagnosis of Fungal Associated with Roots of Cowpea plants Vigna unguiculata (L.) And Integration in Its Resistance. Thesis of Master. College of agriculture, University of Kufa, p. 92.

Iraqi J. Agric. Res. Vol.24 No.1 2019

EVALUATE SOME OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL AGENTS IN CONTROLLING ROOT ROT DISEASE OF COWPEA *Vigna unguic*ulata (L.)Walp

S. N. Hussein

ABSTRACT

This research was aimed to identify the causal agent of root rot disease of cowpea in three Iraqi provinces of Qadisia, Babil and Diyala, and evaluate its pathogenicity and control by using beneficial bacteria of Bacillus cereus (Bc) and Pantoea agglomerans (Pa) which isolated from the rhizosphere of healthy cowpea plants, and silicon (Si) and copper (Cu). The fungus Fusarium solani was predominant, while its percentage of appearance was 82.2% with frequency of 52.7%, Isolate Bfs-7 was most virulent which prohibited germination of the cowpea seed totally in vitro compared to control. The bacterial isolates D6 and Q10 exhibited 100% percentage of inhibition against the pathogen in vitro. Results of bacterial isolates identification using Vitiq2 Compact System showed that they belong to B. cereus and P. agglomerans respectively. Under greenhouse conditions the treatment with (Bc+Pa+Si+Cu) was superior in controlling the disease, while it exhibited 100% percentage of seed germination compared to the negative control (Fungus alone) which achieved 52.2% and the percentage of disease incidence and severity were 7.5%, 1.0% respectively compared to the negative control which were 95.0%, 70.5% respectively. And it exhibited significant increase of plant growth criteria represented by the dry width of plant, while it achieved 2.03 gm/plant compared to negative and positive control which were 0.88, 1.76 gm/plant respectively.

College of Engineering, Al Mustansiriyah Univ., Baghdad, Iraq.