الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم وقاية النبات

دراسة ذبول فوزاريوم على البندورة في الزراعة المحمية واختبار كفاءة بكتيريا مضادة في تثبيطه

رسالة مقدمة لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية قسم وقاية النبات

إعداد

م. ريم عبود الخليف

إشراف

المشرف
أ.د. محمد فواز العظمه
أستاذ في قسم وقاية النبات
جامعة دمشق

المشرف المشارك
أ.د. محمود أبو غرة
أستاذ في قسم وقاية النبات
جامعة دمشق

2023-2022

قدمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم وقاية النبات ـ كلية الهندسة الزراعية ـ جامعة دمشق.

ونوقشت هذه الرسالة وأجيزت

يوم الإثنين الواقع في 2-10-2023

لجنة الحكم:

الأستاذ الدكتور محمد فواز العظمه

الأستاذ الدكتور وليد غازي نفاع

الأستاذ الدكتور أحمد محمد مهنا

This Thesis has been submitted as a partial fulfilment of the requirements for Master Degree in Plant Protection Sciences – Faculty of Agriculture Engineering – Damascus University.

This thesis was approved and accepted
On Monday, the 2ed of October 2023.

Examiners' Committee

Prof. Mohammad Fawaz Azmeh

Prof. Walid Naffaa

Prof. Ahmad Mouhanna

شهادة

نشهد بأنّ العمل الموصوف في هذه الأطروحة، نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة ريم عبود الخليف بإشراف الأستاذ الدكتور محمد فواز العظمه، الأستاذ في قسم علوم وقاية النبات؛ والأستاذ الدكتور محمود أبو غرة، المشرف المشارك والأستاذ في قسم علوم وقاية النبات. وإنّ أية مراجع أخرى بحثت في هذه الرسالة موثقة بالنص.

المرشحة	الأستاذ الدكتور	الأستاذ الدكتور
م. ريم عبود الخليف	**محمد فواز العظمه**	**محمود أبو غرة**

Certificate

We hereby certify that the work described in this thesis is the result of a scientific research performed by the researcher Reem Aboud Alkhlif, under the supervision of Prof. Mohammad Fawaz Azmeh, Professor in Plant Protection Department; and Prof. Mahmoud abu Ghoura, Co- Supervisor, and Professor in Plant Protection Department. All reference books resorted to by the researcher has been checked, by the text.

Candidate: Reem Aboud Alkhlif

Supervisor: Prof. Mohammad Fawaz Azmeh

Co- Supervisor: Prof. Mahmoud abu Ghoura

تصريح

أصرح بأنّ البحث الموصوف في الأطروحة تحت عنوان:

دراسة ذبول فوزاريوم على البندورة في الزراعة المحمية واختبار كفاءة بكتيريا مضادة في تثبيطه. لم يسبق أن قدم للحصول على أية درجة جامعية أخرى، وغير مقدم حالياً لذلك. وإنّ كافة الأعمال والنتائج المذكورة فيه هي جهودي الشخصية وبتوجيه من المشرف العلمي، وإنّ أية معلومات أو نتائج أخرى ذكرت في الأطروحة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

المرشحة

م. ريم عبود الخليف

Declaration

I declare that the present research work entitled **A study on Tomato Fusarium Wilt in Protected Cultivation and Efficiency of its Inhibition by Antagonist Bacteria**. Is a new research work that has never been studied by any other researchers for any other degrees, and currently it is not submitted by any one for any degree. All the works and results mentioned herein are my own efforts guided by the academic supervisor. Any information or additional results referenced in the thesis are properly attributed to their sources and authors within the text and in the bibliography.

Candidate

Eng. Reem Aboud Alkhlif

شكر وتقدير

بداية أتوجه بالشكر إلى أعضاء الهيئة التدريسية في كلية الهندسة الزراعية في جامعة دمشق، وأخص بالشكر أعضاء لجنة الحكم الأساتذة الأفاضل لما قدموه من الوقت والجهد لتصحيح عثرات هذا البحث واخراجه بالوجه الصحيح. الأساتذة

أ.د. محمد فواز العظمة أ.د. وليد غازي نفاع أ.د. أحمد محمد مهنا

كل الحب والاحترام **للأستاذ الدكتور محمد فواز العظمة** و**الأستاذ الدكتور محمود أبو غرة** لإشرافهما على هذه الرسالة وعلى توجيهاتهما الكريمة والعلمية في جميع مراحل البحث ولم يبخلا يوماً في جهدهما ووقتهما.

جزيل الشكر والامتنان لعمادة كلية الهندسة الزراعية والطاقم الإداري وأخص بالشكر عميدة الكلية **الدكتورة عفراء سلوم** المحترمة، ومديرة مكتب الدراسات العليا **السيدة محاسن**.

أتوجه بجزيل الشكر للهيئة العامة للتقانة الحيوية متمثلة بالمدير العام **الدكتور نزار عيسى**، لما قدمته الهيئة من دعم مادي ومعنوي لإتمام هذا البحث والشكر موصول لجميع كوادرها من باحثين واداريين.

الشكر لزملائي في مخبر التنوع الحيوي في الهيئة العامة للتقانة الحيوية و**الدكتور نورس الابرص** وأخص بالشكر

د. إسماعيل الصالح، م. منال الدوس، م. علا السهلي، م. شادي حمزة، م. بثينة سلامة، م. طاهر صواف.

ولا أنسى تقديم الشكر والعرفان لشركة دبانه وشركاه التي أتاحت لي كوادرها المادية والمعنوية دون شروط وأخص بالشكر **د. وائل المتني، م. باسل سمعان، م. سامر محمود**

والشكر موصول لشركة أتومس الكندية لدعمها لي خلال فترة تنفيذ البحث والسماح لي بإجراء العديد من التجارب على مادة نوفوتريت وأخص بالشكر **الدكتور جوني نعمة** المحترم

كل الشكر لكافة المراكز الزراعية والمشاتل في الساحل السوري لكرمهم وحسن تعاملهم وأخص بالشكر **الأستاذ أحمد عبد الكريم**

كما أتوجه بالشكر للداعم الأكبر لي، لمن شاركتا معي جولاتي الحقلية، **المهندستين قمر زعرور، ياسمين يونس.**

الاهداء

أكون جاحدة ان نسيت فضلكم علي عوناً وسنداً وقوةً، تكفيني صلاتكم ودعواتكم الطيبة الصادقة النابعة من القلب الى من لا يكتمل فرحهم الا بفرحي الى من أوصلوني الى هنا

والديّ أطال الله في عمركما .... **أخوتي د. خليل، د. رشا، د. هيا، م. فاطمة، عمر، بتول، ومهجة قلبي صالح.**

الى الكتف المتين الذي عليه أعتمد، الى من يفهمني أكثر من نفسي، الى من سرنا سوياً ونحن نشق طريق النجاح، الى الغائب الحاضر البعيد القريب زميلي وصديقي وسندي **م. أنس نعيم كيوان** وعائلته الكريمة.

الى أصدقائي، اخوتي الذين لم تلدهم أمي من معهم سعدت وبرفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة سرت من تسكن صورهم وأصواتهم أجمل اللحظات التي عشتها

م. هديل أحمد، م. لارا صالح، م. ضحى خالد، م. عبد الله ماردیني، م. يارا بوشاهين

الى أصدقائي الذين جمعتني بهم الحياة الى من تحلّوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء

م. هبة البرنوطي ، م. مي شرف، أ. صفاء الحسين، أ. سوسن سليمان، أ. ليال حمدان.

الى من تمنو لي الخير دوماً أهدي هذا العمل المتواضع راجية من المولى عز وجل أن يجد القبول والنجاح

فهرس المحتويات

المحتوى	رقم الصفحة
الفصل الأول: الجزء التمهيدي (الإطار العام)	1
1-1-التعريفات Definitions	2
1-2-المقدمة Introduction	3
1-3-مشكلة البحث Research problem	6
1-4-تساؤلات البحث Research questions	7
1-5-فرضيات البحث Research Hypothesis	7
1-6-مسلمات البحث Research axioms	8
1-7-أهداف البحث Research Objectives	8
1-8-أهمية البحث Research importance	9
1-9-مسوغات البحث Research justifications	9
1-10-محدوديات البحث Research Limitations	9
1-11-الاختصارات Abbreviations	10
الفصل الثاني: الدراسة المرجعية Literature Review	11
2-1-مرض ذبول فوزاريوم	12
2-2-1-البيئة وانتشار العامل المسبب	13
2-3-أعراض المرض	14
2-4-الفرق بين النوعين *F. oxysporum* و *F. solani*	15

2-4-1-الصفات الزرعية Macroscopic features للنوع *F. oxysporum*	16
2-4-2-الصفات المجهرية Microscopic features للنوع *F. oxysporum*	17
2-4-3-الصفات الزرعية Macroscopic features للنوع *Fusarium solani*	18
2-4-5-الصفات المجهرية Microscopic features للنوع *Fusarium solani*	18
2-5-آلية حدوث المرض	19
2-6-القدرة الإمراضية للفطر المسبب	21
2-7-مكافحة مرض ذبول فوزاريوم	22
2-7-1-المكافحة الكيميائية	22
2-7-2-الأصناف المقاومة	24
2-7-3-المكافحة الحيوية	26
2-7-3-1-آليات تأثير عوامل المكافحة الحيوية	26
الفصل الثالث: مواد وطرائق البحث Materials and Methods	36
3-1-جمع العينات	37
3-2-الفحص الظاهري للعينات المصابة بالذبول	38
3-3-الأوساط المستخدمة في عزل وتعريف أنواع الجنس *Fusarium*	38
3-3-1-وسط أغار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA)	38
3-3-2-وسط أغار قطع أوراق القرنفل Carnation Leaf Piece Agar (CLA)	39
3-4-عزل مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة	39
3-4-1-تحضير المعلق البوغي	39
3-5-تعريف أنواع الجنس *Fusarium* بالاعتماد على الصفات الزرعية والشكلية	40

3-6-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية	42
3-7-اختبار قابلية عدد من أصناف وبعض الأصول البرية للبندورة المتوفرة محلياً للإصابة بذبول فوزاريوم	43
3-8-عزل البكتريا من الجذور	45
3-9-عزل البكتريا من التربة المحيطة بالجذور	46
3-10-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة على تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة مخبرياً	47
3-10-1-اختبار القدرة التضادية بطريقة التضاد بالقطاعات	47
3-10-2-اختبار القدرة التضادية بطريقة التضاد بالحفرة Well-Plate Assay	48
3-11-تعريف البكتيريا المعزولة المثبطة لنمو مسبب ذبول فوزاريوم	49
3-11-1-اختبار صبغة غرام Gram stain test	49
3-11-2-اختبار غرام بطريقة GRAM reaction RYV	49
3-11-3-اختبار اكسيداز Oxidase Test	49
3-11-4-اختبار قدرة البكتريا على تشكيل الجراثيم الداخلية (التبوغ) Endospore formation	50
3-11-5-انتاج البكتريا للصبغات الوميضية على وسط King B Bacterial fluorescence production test	50
3-11-6-اختبار فرط الحساسية على التبغ Hypersensitivity Test on Tobacco leaf	50
3-11-7-اختبار التنفس Oxidation -Fermentation Test	51
3-11-8-اختبار كاتلاز Catalase Test	51

3-11-9-اختبارتحلل البكتين أو تعفن شرائح البطاطا Potato slice rot Test	51
3-11-10-اختبار تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis	52
3-11-11-اختبار تحلل النشاء Starch hydrolysis	52
3-11-12-اختبار تحمل البكتريا لتركيز 2% NaCl Growth on medium containing 2% sodium chloride	53
3-11-13-اختبار احمر الميتيل Mythel red Test (MR)	53
3-11-14-اختبار اليورياز Urease Test	53
3-11-15-حركة البكتيرية Motility of bacteria	53
3-11-16-اختبار حلمهة الدم Hemolytic test	54
3-11-17-اختبار voges-proscaver (VP)	54
3-11-18-اختبار صبغ بروتين الكريستالات staining of the crystal protein test	54
3-12-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة على تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة في الأصص	55
3-13-التحليل الاحصائي	58
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة Results and Discussion	59
4-1-الفحص الظاهري للعينات المصابة بالذبول	60
4-2-عزل مسبب ذبول البندورة	60
4-3-تعريف أنواع الجنس *Fusarium* بالاعتماد على الصفات الزرعية والشكلية	61
4-4-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية	66
4-4-1-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية للنوع *F. solani*	67

4-4-2-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية للنوع *F. oxysporum*	68
4-5-اختبار قابلية عدة أصناف وبعض الأصول البرية للبندورة المتوفرة محلياً للإصابة بذبول فوزاريوم	68
4-6-عزل البكتريا من جذور نبات البندورة ومن التربة المحيطة بالجذور	72
4-7-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة في تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة مخبرياً	75
4-8-تعريف البكتيريا المعزولة المثبطة لنمو مسبب ذبول فوزاريوم	79
4-9-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة في تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة في الأصص	81
المناقشة Discussion	88
الفصل الخامس: الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendation	95
الاستنتاجات Conclusion	96
التوصيات Recommendation	97
الفصل السادس: المراجع	98

فهرس الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
(1)	موقع ونوع وتاريخ جمع العينات النباتية التي ظهرت عليها أعراض الذبول	37
(2)	رموز ومواقع العينات التي جمعت لعزل البكتيريا من جذور النبات والتربة المحيطة بها	38

(3)	موقع ونوع العينات النباتية التي عزلت منها العزلات الفطرية المأخوذة من مخبر أمراض النبات في كلية الزراعة، جامعة دمشق، ومواصفات هذه العزلات (مهنا وآخرون،2019)	40
(4)	أنماط وألوان وأقطار المستعمرات الفطرية وحيدة البوغ	63
(5)	أبعاد الأبواغ الكونيدية (الطول × العرض) للعزلات الفطرية *F. solani* و *F. oxysporum*	64
(6)	اختبار القدرة الإمراضية لعزلات النوع *F. solani* على البندورة	67
(7)	اختبار القدرة الإمراضية لعزلات للنوع *F. oxysporum* على البندورة	69
(8)	تقييم الإصابة بمسببات ذبول فوزاريوم على أصناف وهجن البندورة المزروعة محلياً	70
(9)	تقييم قابلية إصابة الأصول البرية بالفطر الممرض بعد 3 أشهر من العدوى	71
(10)	العزلات البكتيرية المعزولة من جذور النباتات السليمة والتربة المحيطة بالجذور	72
(11)	مسافة التضاد Antagonistic distance ونسبة التثبيط Inhibition بين فطر الذبول بنوعيه *F. solani* و*F. oxysporum* والعزلات البكتيرية التي ثبطت نمو الفطر مخبرياً في تجربة التضاد بالقطاعات	77
(12)	مسافة التضاد ونسبة التثبيط بين فطر الذبول بنوعيه *F. solani* و *F. oxysporum*والعزلات البكتيرية المعزولة من جذور وتربة المحيط الجذري لنبات البندورة ومصادر أخرى التي ظهرت في تجربة التضاد بالحفرة	78

(13)	مسافة التضاد ونسبة التثبيط التي ابدتها العزلات البكتيرية ضد كلتا العزلتين الفطريتين	79
(14)	الاختبارات البيوكيميائية لتعريف العزلات البكتيرية	80
(15)	تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط الفطر *F. solani* على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية	82
(16)	تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط الفطر *F. oxysporum* على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية	83
(17)	تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط كلا مسببي الذبول على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية	85
(18)	عدد أبواغ الميكوريزا VAM في اللقاح الميكوريزي وعدد القطع الجذرية لنبات الذرة الصفراء المستعمرة ونسبة استعمار الجذور PRC%	87

فهرس الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
(1)	شكل ولون المستعمرات الفطرية لكلا النوعين *F. oxysporum* و *F. solani*	62
(2)	التوصيف الشكلي لأبواغ العزلات التابعة للنوع *F. solani* باستخدام المجهر الضوئي تكبير ×400	65
(3)	التوصيف الشكلي لأبواغ العزلات التابعة للنوع *F. oxysporum* باستخدام المجهر الضوئي تكبير ×400،	66

(4)	طرق اختبار تضاد العزلات البكتيرية مخبرياً a: طريقة التضاد بالقطاعات b: طريقة التضاد بالحفرة	76
(5)	b،a : مقاطع تشريحية في جذور نبات الذرة الصفراء *Zea mays* باستخدام المجهر الضوئي (تكبير×100) توضح تشكل الحويصلات داخل الخلايا، c: مقطع تشريحي في جذر نبات الذرة باستخدام المجهر الضوئي (تكبير ×400) يوضح شكل الحويصلات البيضاوية والتفرعات الشجرية للميكوريزا بين الخلايا، e،d: أبواغ الميكوريزا الحويصلية VAM الجنس *Glomus spp* التي تم عزلها من المحيط الجذري لنبات الذرة (تكبير×600)	86

فهرس المعادلات

رقم المعادلة	عنوان المعادلة	رقم الصفحة
(1)	النسبة المئوية لشدة المرض Disease severity%	43
(2)	النسبة المئوية لنسبة الإصابة Infection rate%	43
(3)	النسبة المئوية للتثبيط Inhibition%	48
(4)	النسبة المئوية لاستعمار الجذور PRC%	57

الملخص

جُمعت ونُقيت 24 عزلة من الفطر الممرض *Fusarium* من محافظتي طرطوس واللاذقية، وتم تصنيفها بناءً على الصفات الشكلية الزرعية والمجهرية، واختبرت قدرتها الإمراضية وقُيمت شراستها تجاه صنف البندورة القابل "سمرتيترا". أمكن توصيف 9 عزلات تنتمي للنوع *Fusarium solani* و15 عزلة تنتمي للنوع *Fusarium oxysporum*، كما تم اختيار العزلتين الأكثر شراسة FU6 (*F. solani*) وFU7 (*F. oxysporum*) ذوات شدة المرض 56.7 % و73.3 %على التوالي لإجراء اختبار مقاومة 21 صنف وهجين بندورة مزروعة محلياً، بالإضافة الى 8 أصول برية للبندورة *Solanum lycopersicum* L. للإصابة بذبول فوزاريوم. تباينت الأصناف في قابليتها للإصابة بالعزلات المختبرة تحت ظروف العدوى الاصطناعية، لم تسجل أي إصابة على الصنف "بلحي شوكولا" بالعزلة FU7، وكذلك على الصنفين "بلحي شوكولا ومجدلينا" بالعزلة FU6، وبالنسبة للأصول البرية لم تسجل أي إصابة على الأصل Multifort F1، بينما كان الأصل Beaufort F1 الأكثر قابلية للإصابة بنسبة إصابة 41.67% لكلا العزلتين الفطريتين اما باقي الأصول فكانت متدرجة بين متوسط المقاومة ومتوسط القابلية. لدى اختبار قدرة العزلات البكتيرية المحلية المعزولة من المحيط الجذري لنباتات بندورة سليمة ونبات النفل الارجواني البري في تثبيط ذبول فوزاريوم، كانت أفضل العزلات في تثبيط النوع *F.solani* حقلياً ومخبرياً هي العزلة RIZN التي عُرفت بيوكيميائياً وكانت تتبع للنوع *Bacillus cereus* (شدة المرض 3.33% ،نسبة التثبيط 43.8%). أما العزلة A12 التابعة للنوع *Pseudomonas fluorescens* فقد خفضت شدة المرض ونسبة الإصابة بالنوع *F. oxysporum* حقلياً (شدة المرض 3.33%)، ولكن لم تثبط نمو المشيجة الفطرية مخبرياً، وعلى عكسها العزلة I91 التابعة للنوع *Bacillus cereus* التي ثبطت نمو الفطر *F. oxysporum* مخبرياً (نسبة التثبيط 33.3%). وتبين أن العزلة RIZN المعزولة من محيط العقد الجذرية لجذور نبات النفل الارجواني والتابعة للنوع *Bacillus cereus* قامت بتثبيط الإصابة بكلا النوعين الفطريين *F.solani* و *F. oxysporum* مخبرياً وحقلياً. وكان أفضل المبيدات التجارية المدروسة في تثبيط *F.solani* هو *Trichoderma* (شدة المرض 6.67%)، وأفضلها في تثبيط *F. oxysporum* حقلياً المبيد NOVOTREAT (شدة المرض 6.67%) كما لم يكن بينه

وبين المعاملة بالميكوريزا الحويصلية VAM والمبيد الكيميائي بلتانول في مكافحة *F.solani* حقلياً (شدة المرض 16.67%) .

الكلمات المفتاحية: بندورة، *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani*، الأصناف المقاومة، *Pseudomonas fluorescens*،*Bacillus cereus* ، NOVOTREAT، الميكوريزا الحويصلية، *Trichoderma harzianum*، بلتانول

الفصل الأول

الجزء التمهيدي

(الإطار العام)

1-1-التعريفات Definitions

ذبول فوزاريوم Fusarium wilt: هو أحد الأمراض الفطرية يحدث نتيجة وجود ونشاط الكائن الممرض فوزاريوم في أنسجة الأوعية الخشبية للنبات، يصيب بشكل أساسي الخضار الحولية ونباتات الأزهار والمحاصيل المزروعة وبعض الأشجار، وهو من ساكنات التربة ويصيب النبات عن طريق الجذور التي يخترقها مباشرة أو عن طريق الجروح وبعد اختراق الفطر جذر النبات فإن الميسيليوم يصل إلى اوعية الخشب، وينتج ثلاث أشكال من الأبواغ اللاجنسية وهي الابواغ الكونيدية الصغرى والابواغ الكونيدية الكبرى والابواغ الكلاميدية، يتناسب مع الظروف البيئية الدافئة (Agrios,2005)

بكتيريا المحيط الجذري Rhizobacteria: هي البكتيريا التي تتعايش مع جذور مضيفاتها النباتية، حيث تعيش حياة تكافلية معها، وتعمل كسماد حيوي وكائنات حية مضادة حيث تمنع بشكل مباشر أو غير مباشر تطور الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض النباتية من خلال العديد من الآليات كالمنافسة والتضاد والمقاومة المستحثة (Kloepper,2003)

المكافحة الحيوية Biocontrol: التعريف الذي اعتمدته المنظمة الدولية للمكافحة الحيوية IOBC (International Organization for Biological Control) هو ان المكافحة الحيوية هي عبارة عن استخدام الكائنات الدقيقة او منتجاتها لمنع أو تخفيف الخسائر او الأضرار الناتجة عن الآفات، ومن وجهة نظر بيئية هي مرحلة من مراحل المكافحة الطبيعية تحافظ على كثافة مجتمع كائن حي بواسطة الطفيليات او المفترسات او الممرضات.

التضاد الحيوي Antibiosis: آلية تتم من خلال افراز الكائن المضاد السموم او المواد الايضية الميكروبية التي ينتجها لتحد من نمو الكائن الممرض أو تقتله تماماً، بينما لا يتأثر الكائن المضاد بهذه المواد، تنتج بعض الكائنات الحية المضادة فقط مستقلباً واحداً، بينما يُعرف أن بعض الكائنات الحية المضادة تنتج مستقلبات متعددة حتى تكون فعالة ضد ممرض واحد أو أكثر (Pal and Gardener, 2006)

الأصناف المقاومة Resistant varieties: هي النباتات التي تكون أقل إصابة بالآفات أو الأمراض النباتية حيث تملك مورثات للمقاومتين العمودية والأفقية ومثل هذه الأصناف تكون مقاومة لسلالات الكائن الممرض، وتعتبر أحد طرق المكافحة الناجحة للآفات ويتم انتاجها من قبل شركات البذور (Dubin *et al.*,1982)

الزراعة المحمية Protected cultivation: هي طريقة حديثة لزراعة النباتات ضمن أنفاق أو بيوت بلاستيكية أو زجاجية، ذات المناخ الداخلي الخاضع للسيطرة والتحكم باستخدام أجهزة التدفئة والتبريد والتهوية، بغرض حمايتها من الظروف الجوية غير المناسبة وتوفير الظروف البيئية التي تلائم نموها الخضري والثمري من حيث درجات الحرارة والرطوبة والتهوية والاضاءة وإمكانية إنتاجها في غير موسمها.

1-2-المقدمة Introduction

تتبع البندورة *Solanum lycopersicum* للعائلة الباذنجانية Solanaceae وتّعد واحدة من أكثر محاصيل الخضر أهمية وشعبية في العالم (Pritesh and Subramanian, 2011). وهي من أهم محاصيل الخضار المدارية المزروعة (Hadian *et al.*, 2011). وتحتل المرتبة الأولى في الإنتاج العالمي من الخضار، وتشير تقديرات منظمة الأغذية والزراعة الدولية (FAO) إلى أن مجمل الإنتاج العالمي من البندورة بلغ 373 مليون طن، حيث زرعت في 44 دولة وتعد أمريكا والصين وإيطاليا أكثر الدول المنتجة لها في العالم (FAO,2017).

تشكل البندورة في سوريا مصدراً مهماً للدخل بسبب إنتاجيتها العالية والتكلفة المنخفضة نسبياً للإنتاج، وتساعد درجات الحرارة المعتدلة المزارعين في إنتاج البندورة على نطاق واسع في الحقول المكشوفة إضافة للمناخ المعتدل في المنطقة الساحلية الذي يمكن من الزراعة المحمية في الخريف والشتاء مع التحكم بظروف الإنتاج، بصورة رئيسية في محافظتي طرطوس واللاذقية، وتأتي محافظة طرطوس في المقدمة من حيث عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة وتليها محافظة اللاذقية.

بلغت المساحة المزروعة بالبندورة في سوريا 14458 هكتاراً لعام 2020 ووصل انتاجها إلى 780617 طناً وكانت الغلة 53992 كغ/هكتار. وبلغ عدد البيوت البلاستيكية المزروعة بالبندورة 97547 بيتاً بمساحة

3902 هكتار بإنتاج قدره 487735 طناً وكانت الإنتاجية 5000 كغ/ البيت (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية ، 2020)

يتزايد الاستهلاك والطلب على البندورة كونها متوفرة بسعر أقل مقارنة بالخضار الأخرى. وتستخدم كخضار طازجة في العديد من الوجبات المطبوخة في المنزل، والوجبات التي تقدمها المطاعم، كما تستخدم في تصنيع العصير ورب البندورة والصلصات بالإضافة إلى انها متاحة على مدار السنة بسبب إنتاجها الموسمي في مواقع مختلفة في سوريا وحول العالم (Chohan *et al.*,2008). يعد محصول البندورة عالي القيمة التسويقية المحلية وله اهمية من الناحية الغذائية (Waiganjo *et al.*, 2006). حيث تحوي على نسبة عالية من العناصر الغذائية والفيتامينات (مثل A وC)، والمعادن (مثل البوتاسيوم والفوسفور والمغنيزيوم والكالسيوم)، وعلى تركيز معتدل من البروتينات والنياسين (Kaushik *et al,* 2011)، والعديد من العناصر الغذائية المفيدة لصحة الإنسان مثل الليكوبين الغذائي والكاروتين β والكاروتينات والألياف ومضادات الأكسدة (Britt and Kristin 2011; Troncoso–Rojas *et al.* 2013).

البندورة محصول متكيف مع درجات حرارة مختلفة، ولكنها تنمو بشكل جيد في الظروف الدافئة، وتتراوح درجات الحرارة المثالية لها بين 15 ˚س و25 ˚س. تقلل الرطوبة العالية ودرجات الحرارة المرتفعة من مجموع الثمار والغلة، وتؤدي درجات الحرارة المنخفضة جداً إلى تأخير تشكل اللون والنضج، بينما تمنع درجات الحرارة التي تزيد عن 30 ˚س تكوين الثمار وتؤثر على نكهتها وعلى تشكل الليكوبين. تنمو البندورة بشكل أفضل عندما يكون معدل هطول الأمطار منخفضاً إلى متوسط مع الري التكميلي في غير موسمها. تنمو البندورة بشكل جيد في جميع أنواع الترب التي تحتوي على نسبة عالية من المواد العضوية، جيدة الصرف، درجة الحموضة فيها بين 5–7.5 (Waiganjo *et al.*, 2006). يفضل نبات البندورة التربة التي لديها قدرة جيدة على الاحتفاظ بالرطوبة. وتنمو بشكل جيد على ارتفاع ما بين 1000 إلى 2000 متر فوق مستوى سطح البحر (Robert, 2005).

غالباً ما تصاب نباتات البندورة بمسببات الأعفان في الحقول وأماكن التخزين. يمكن ان تحدث هذه الأمراض بسبب عدة عوامل منها سوء التعبئة والإدارة غير السليمة. ويمكن أن تسبب هذه العوامل ذبول أو تعفن

البندورة في الأسواق (Taskeen-Un-Nisa *et al.*, 2011؛ Xie *et al.*, 2012). يُعزى انخفاض إنتاجية محصول البندورة لقابليتها للإصابة بالعديد من الأمراض البكتيرية والفيروسية والفطرية والنيماتودا، مثل ذبول فوزاريوم Fusarium wilt والعفن الرمادي Gray mold واللفحة المبكرة Early blight المتسببة عن الفطر *Alternaria solani* والذبول البكتيري Bacterial wilt والتدهور السريع أو سقوط البادرات Damping off الذي يتسبب عن أنواع الأجناس الفطرية: *Phytophthora* sp و.*Pythium* sp وذبول فرتسيليوم Verticillium wilt (Al-Ani *et al.*, 2011) واللفحة المتأخرة المتسببة عن الفطر *Phytophthora infestans* ونيماتودا تعقد الجذور (Babalola and Glick.,2012).

ينجم الذبول البكتيري عن النوع *Pseudomonas solanacearum*، في حين يعزى الذبول الفطري لأحد الجنسين *Verticillium* و*Fusarium* (Mardi *et al.*, 2002). يعتبر ذبول فوزاريوم البندورة Fusarium wilt أحد أهم الامراض في كل من البندورة الحقلية والبندورة المزروعة بالبيوت البلاستيكية في جميع أنحاء العالم (Abdel-Monaim, 2012; Amini and Sidovich, 2010; Sheu and Wang, 2006).

تعد مكافحة فوزاريوم صعبة بسبب نموه داخل النبات واستمرارية وجود أبواغه وانتقالها في التربة. لذلك يوجد العديد من استراتيجيات المكافحة مثل اعتماد الأصناف المقاومة والمكافحة الحيوية والدورة الزراعية والمبيدات الفطرية الكيميائية (Rodríguez *et al.*, 2000). يمثل استخدام الكائنات الدقيقة المضادة استراتيجية بديلة لإدارة الأمراض (Lugtenberg and Kamilova, 2009) كما تم استخدام العوامل الحيوية بشكل فعال لمكافحة مرض ذبول فوزاريوم على البندورة (Freeman *et al.*, 2002). ونتيجة ازدياد الوعي والرغبة بالحصول على غذاء خالٍ من الأثر المتبقي للمبيدات وتأثيرها على الصحة، ظهرت أهمية استخدام الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في منطقة المحيط الجذري و/أو منتجاتها في مكافحة أمراض النبات. يمكن أن تكون الآليات التي تعتمدها عوامل المكافحة الحيوية مباشرة أو غير مباشرة أو مختلطة (Pal and Gardener, 2006). ويعد الجنسان البكتيريان *Bacillus* و*Pseudomonas* أكثر أجناس البكتيريا المستخدمة في الزراعة كمحفزات لنمو النبات وعوامل مكافحة حيوية للفطريات (Petatán *et al.,* 2011). من نواتج الاستقلاب التي تنتجها البكتيريا ضد الفطريات siderophores،

phenazines، pyrrolnitrin والببتيدات الحلقية cyclic peptides، ومنشطات السطح الحيوي biosurfactants والإنزيمات المحللة مثل الكيتيناز والغلوكاناز (Raaijmakers *et al.*, 2010; Rahmoune *et al.,* 2017). تعد منشطات السطح الحيوي Biosurfactants (BS) مركبات نشطة تنتج على سطح خلايا الكائنات الحية الدقيقة وتعمل كخافضات للتوتر السطحي وتصنف في أربع فئات بناءً على التباين الهيكلي و صفاتها الفيزيائية والكيميائية وهي غلوكوليبيدات وببتيدات دهنية وفوسفولبيدات وبوليميرات خافضة للتوتر السطحي وتكون ذات فعالية عالية في ظروف الاجهاد وتعتبر قليلة السمية وصديقة للبيئة ويمكن تطبيقها في الزراعة حيث تساعد هذه المركبات في إنبات البذور وحماية النبات من الأمراض ومعالجة التربة وإتاحة العناصر الغذائية للنبات (Otzen, 2017).

1-3-مشكلة البحث Research problem

نظراً لأهمية البندورة كمحصول غذائي واقتصادي، ينخفض إنتاج المحصول بسبب قابليته للإصابة بالعديد من العوامل الممرضة والتي تشكل عائقاً أمام زراعتها. ويعد ذبول فوزاريوم Fusarium wilt من أكثر المسببات ضرراً على البندورة في الزراعة المحمية في الساحل السوري لتوافر الظروف البيئية الملائمة لحدوث الإصابة، ويسبب ذبولاً وانخفاضاً كبيراً في الإنتاجية. ونظراً لزيادة الطلب على البندورة كخضار تسويقية طازجة، وكمادة تدخل في الصناعات الغذائية، تظهر حاجة ملحة لزيادة انتاج هذا المحصول، ويمكن تحقيق ذلك من خلال استخدام أصناف جيدة وطرائق حديثة للتسميد الكيميائي. ولا تخفى مساوئ الاستخدام المتكرر للأسمدة الكيميائية وأثرها على البيئة والتربة وعلى نوعية المنتج الزراعي، خصوصاً أنه قد ثبت ان التسميد الكيميائي له آثار ضارة على صحة الانسان. من جانب أخر أدى ظهور مفاهيم الزراعة النظيفة الخالية من المواد الكيميائية والزراعة العضوية إلى إيجاد بدائل سمادية او استخدام العوامل الحيوية في التربة من بكتيريا وفطور مفيدة يمكن لها ان تؤمن العناصر الغذائية للنبات. كما تستخدم في مكافحة الأمراض لتوفير نظام مكافحة صديق للبيئة.

1-4-تساؤلات البحث Research questions

1. ما هي أنواع الجنس فوزاريوم *Fusarium* المسببة لأعراض الذبول على نباتات البندورة التي جُمعت من البيوت البلاستيكية التي انتشرت فيها الإصابة؟
2. هل يوجد فرق في قابلية أصناف وهجن البندورة والأصول البرية في الظروف المحلية للإصابة بذبول فوزاريوم؟
3. ما هي أنواع بكتيريا المحيط الجذري المعزولة من نباتات البندورة السليمة المزروعة في البيوت البلاستيكية التي تنتشر فيها الإصابة بالذبول؟
4. هل جميع العزلات البكتيرية المعزولة من المحيط الجذري قادرة على تثبيط نمو مشيجة فطر فوزاريوم في الزجاج *in vitro*؟
5. هل يوجد ارتباط بين قدرة البكتيريا على تثبيط نمو مشيجة فطر الذبول في الزجاج *in vitro* وقدرتها على تثبيط الإصابة بذبول فوزاريوم في الأصص *in planta*؟
6. أيها أفضل في مكافحة ذبول فوزاريوم وزيادة نمو نبات البندورة في الأصص، المبيدات الكيميائية أم المبيدات الحيوية التجارية ام عزلات البكتيريا المحلية المعزولة من المحيط الجذري للنباتات؟

1-5-فرضيات البحث Research Hypothesis

1. يوجد فروق دالة احصائياً عند مستوى دلالة (a=0.05) لدى اختبار القدرة الإمراضية لعزلات مسببات ذبول فوزاريوم *F. oxysporum* و*F. solani* على صنف البندورة القابل للإصابة "سمرتيترا"
2. يوجد فروق دالة احصائياً عند مستوى دلالة (a=0.05) لدى اختبار القدرة الإمراضية لعزلة شرسة لمسببي ذبول فوزاريوم على أصناف البندورة المتوفرة محلياً بما فيها بعض الأصول البرية.
3. يوجد فروق دالة احصائياً عند مستوى دلالة (a=0.01) لدى اختبار قدرة البكتيريا المعزولة من المحيط الجذري على تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة في الزجاج

4. يوجد فروق دالة احصائياً عند مستوى دلالة (a=0.05) لدى اختبار قدرة البكتيريا المعزولة من المحيط الجذري على تثبيط الإصابة على صنف بندورة قابل للإصابة بالمقارنة مع المبيدات الكيميائية والحيوية المتوفرة محلياً.
5. يوجد ارتباط عكسي أو طردي بين قدرة البكتيريا على تثبيط نمو مشيجة فطر الذبول في الزجاج *in vitro* وقدرتها على تثبيط الإصابة بذبول فوزاريوم في الأصص *in planta*

1-6-مسلمات البحث Research axioms

1. ان التعريف الشكلي للفطريات الممرضة للنبات هو الخطوة الأولى والأكثر صعوبة في عملية التشخيص وهذا ينطبق بشكل خاص على الجنس *Fusarium* (Rahjoo *et al.*,2008).
2. وجود تباين مورفولوجي بين عزلات الفطر فوزاريوم وتباين في قدرتها الإمراضية (Al-Khatib,2004).
3. تشمل طرق المكافحة التي تم استخدامها في مكافحة المرض المكافحة الحيوية والكيميائية واستخدام الأصناف المقاومة (Pottorf, 2006)
4. تعد معرفة الممرض وسلالاته الفيزيولوجية جانب مهم في مكافحة المرض، بالإضافة إلى أنه يسمح للمزارع باختيار الأصناف الأنسب للزراعة (do Amaral *et al.*, 2008)
5. البكتيريا المعزولة من منطقة المحيط الجذري لنباتات البندورة السليمة والمزروعة في حقول مصابة بذبول فوزاريوم أثبتت قدرتها في تثبيط الإصابة بذبول فوزاريوم في المخبر والحقل وتتبع للجنسين *Pseudomonas* و*Basillus* (Mohammed *et al.*, 2019).

1-7-أهداف البحث Research Objectives

1. مقارنة إمراضية مسبب ذبول فوزاريوم البندورة في الزراعة المحمية على بعض أصناف البندورة التجارية والأصول البرية.
2. عزل وتعريف بكتيريا مضادة لمسبب ذبول فوزاريوم من المحيط الجذري لنبات البندورة ومصادر أخرى.

3. دراسة التضاد الحيوي للعزلات البكتيرية تجاه العزلات الفطرية المدروسة في الزجاج.

1-8-أهمية البحث Research importance

تعد صحة النبات وجودة إنتاجية المحاصيل عوامل مهمة للحفاظ على جودة وتوافر الغذاء لتلبية حاجة السكان المتزايدة في جميع أنحاء العالم، كما أن الاستخدام الواسع لمبيدات الآفات في الزراعة يؤدي إلى تلويث المنتجات ذات القيمة الاقتصادية العالية مثل الرز والقطن والمحاصيل والخضار والفاكهة وهذا التلوث يسبب انخفاض جودة المحاصيل، التي بدورها تعد العامل المحدد لأسعار هذه المنتجات في الأسواق الدولية لذلك يبذل العلماء والباحثون جهوداً كبيرة في سبيل تحقيق الزراعة المستدامة من خلال استخدام المبيدات والأسمدة الحيوية كبديل للمبيدات والأسمدة الكيميائية، وتشمل المبيدات الحيوية الكائنات الدقيقة أو نواتج استقلابها ، هذه الكائنات المستخدمة ونواتجها يجب ان تكون أمنة للإنسان والكائنات الحية الأخرى، غير سامة، ليس لها أثر متبقي. تستخدم المبيدات الحيوية بعدة أشكال بخاخات أو بودرة أو سائل غمر أو مركزات سائلة أو مساحيق قابلة للبلل أو حبيبات.

1-9-مسوغات البحث Research justifications

1. تعد البندورة من أهم المحاصيل على المستوى العالمي والمحلي نظراً لأهميتها الاقتصادية والغذائية
2. الخسائر الكبيرة في محصول البندورة في البيوت البلاستيكية الناتجة عن الاصابة بأمراض الذبول.
3. الفائدة العملية والاقتصادية من زراعة أصناف بندورة متحملة ومقاومة للذبول.
4. تكاليف المكافحة والمبيدات الكيميائية وأثرها الضار على الصحة والبيئة.
5. الاتجاه العالمي نحو استخدام المكافحة الحيوية.

1-10-محدوديات البحث Research Limitations

اقتصرت الدراسة فقط على المنطقة الساحلية حيث نفذ المسح الحقلي وجمع العينات النباتية المصابة والسليمة لعزل مسببات ذبول فوزاريوم والبكتيريا المضادة لها، في خريف وشتاء موسم 2020-2021، من بيوت بلاستيكية تابعة

لمحافظتي طرطوس واللاذقية.

نفذت الاعمال المخبرية في مخبر التنوع الحيوي التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق، ومخبر الأمراض البكتيرية التابع لقسم وقاية النبات في جامعة دمشق .اقتصرت الدراسة على 25 عزلة للفطر فوزاريوم المسبب لذبول البندورة، 15 عزلة منها عزلت من عينات بندورة مصابة في البيوت البلاستيكية في الساحل السوري، واستخدمت 9 عزلات للفطر الممرض من مخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات، جامعة دمشق (مهنا وآخرون،2019). و8 عزلات بكتيرية محلية، سبعة منها معزولة من المحيط الجذري لنبات البندورة وواحدة معزولة من المحيط الجذري لنبات النفل الارجواني البري، اثبتت قدرتها في تثبيط نمو الفطر المسبب للذبول. كما أجريت تجارب الإمراضية للعزلات الفطرية على صنف البندورة القابل للإصابة "سمرتيترا"، واقتصرت تجربة اختبار قابلية أصناف وهجن وبعض الأصول البرية للبندورة للإصابة بذبول فوزاريوم على 21 هجين بندورة و8 أصول برية، متوفرة محلياً وتستخدم في الزراعة المحمية.

1-11-الاختصارات Abbreviations

FU6: عزلة شرسة للفطر *Fusarium solani*

FU7: عزلة شرسة للفطر *Fusarium oxysporum*

PDA: وسط آغار البطاطا والدكستروز

NA: وسط الآغار المغذي

NB: وسط المرق المغذي

A12, B22, C33, F63: عزلات بكتيرية تابعة للنوع *Pseudomonas fluorescens*

I91, J02, K11, RIZN: عزلات بكتيرية تابعة للنوع *Basillus cereus*

الفصل الثاني

الدراسات المرجعية

Literature Reviews

2-1-مرض ذبول فوزاريوم:

كان يصنف جنس *Fusarium* سابقاً في صف الفطور الناقصة Deuteromycetes، ويصنف حالياً ضمن الفطور الأسكية (الزقية) Ascomycetes في رتبة Hypocreales. تشمل أشكال الطور الكامل Telemorph لهذا الجنس أنواعاً ضمن ثلاثة أجناس *Gibberella* و*Haematonectria* و*Albonectria*. ومع ذلك، فإن بعض أنواع فوزاريوم لا تشكل سوى الطور الناقص Anamorph (Ismail *et al*.,2015).

تم تسمية جنس *Fusarium* من قبل Link في عام 1809 للأنواع التي تنتج ابواغاً ذات شكل مغزلي ولها حواجز بارزة على السطح وتُحمل على وسائد Stroma. مع تطور طرق العزل والتنقية تبين ان الوسائد الهيفية stroma او الوسادة البوغية (الحبيكة) sporodochium لم تعد تعتبر صفة أساسية للجنس. ينتج الفطر ثلاثة أنواع من الأبواغ اللاجنسيّة وهي تعتبر أهم صفة تشخيصية للفطر:

الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia مغزلية الشكل Fusiform أو اسطوانية متعددة الحواجز والتي تحتوي خلية قاعدية (خلية القدم) والخلية القمية تستخدم للتمييز بين أنواع الجنس فوزاريوم، وهي قليلة نسبياً تنشأ من حامل كونيدي Conidiophores.

الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia وتتميز بشكلها البيضوي أو الذي يشبه الكلية.

الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores وتتميز بشكلها المكور وجدارها السميك والتي تتكون طرفياً أو بينياً في الهيفات أو أحياناً على الأبواغ الكونيدية الكبرى بعد أسبوعين إلى ثلاثة أسابيع من تنميتها على وسط أغار البطاطا والدكستروز PDA. (Ismail *et al*,2015).

يتميز الفطر *Fusarium oxysporum* بوجود 3 سلالات فيزيولوجية ممرضة (1 و2 و3) ومتخصصة في النباتات التي تحمل مورثات المقاومة السائدة الخاصة بالسلالة (Biju *et al*, 2017). بعض أنواع الجنس *Fusarium* تنتج السموم Fusariotoxins وقد يؤدي تناول الاغذية الملوثة بهذه السموم إلى ظهور أعراض الحساسية أو تكون مسببة للسرطان. حيث ان مجموعة السموم Fumonisins تنتجها الأنواع *F. verticillioides*

و *F. proliferatum* في نبات الذرة والتي تسبب سرطان المري (Pitt, 2000). كما تنتج أنواع فوزاريوم سموم Trichothecenes وBeuvericin وMoniliformin وFumonisins B1 و Zearalenones(Zainudin *et al.*, 2015; Wiśniewska *et al.*, 2011; Schaafsma *et al.*, 1998).

يعد الجنس *Fusarium* أحد أهم الأجناس لما يسببه من أمراض على النبات يمكن أن تكون مدمرة مثل ذبول فوزاريوم Fusarium wilt وعفن فوزاريوم للجذر والساق Fusarium root/stem rot في العديد من المحاصيل ذات الأهمية الاقتصادية (Leslie and Summerell ,2006).

يعد ذبول فوزاريوم الناجم عن الإصابة بـ *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans متخصصاً بالبندورة. حيث وصف لأول مرة بواسطةG.E. Massee في إنكلترا في عام 1895، ولهذا المرض أهمية في جميع أنحاء العالم حيث تم تسجيله على الأقل في 32 دولة حيث يتواجد بشكل كبير في البلدان ذات المناخ الدافئ(Mui-Yun, 2003) .

2-1-1-البيئة وانتشار العامل المسبب:

تنتشر أنواع فوزاريوم بشكل كبير في التربة والهواء ومحمولة ببقايا النبات ويمكن عزل الفطر من جميع أجزاء النبات (من الجذور العميقة حتى الازهار القمية). كما يكثر انتشاره في الترب المزروعة في المناطق المدارية والمعتدلة، ويعتبر من فطور التخزين الرئيسية المسببة للأعفان(Leslie & Summerrell 2006) .

تعد انواع فوزاريوم من الفطريات ساكنات التربة ويمكن أن تبقى فيها لمدة تصل إلى 30 عاماً (Thangavelu *et al.*, 2003)، وتعد درجة حرارة التربة والهواء 28 °س هي الأمثل لحدوث الاصابة. إذا كانت درجة حرارة التربة مثالية ولكن درجة حرارة الهواء أقل من المثلى، فإن العامل الممرض يمتد إلى الأجزاء السفلية من الساق فقط، ولن تظهر أعراض الإصابة الخارجية على النبات(Mui-Yun, 2003) ، يحدث ذبول فوزاريوم في ظروف درجات الحرارة الدافئة في التربة والرطوبة المنخفضة(Lewis, 2003) . يشتد حدوث المرض في الترب الرملية وبشكل أقل بكثير في الترب الطينية الثقيلة (Larkin *et al.*, 2002) ينتشر فوزاريوم بكثرة في الترب

الرملية الحامضية ولا تناسبه درجات الحرارة الدافئة (34 °س) او الباردة (17–20 °س) حيث تعمل على ابطاء نشاط الفطر (Di Pietro *et al*,2003). يتم الحصول على أعلى نمو لـ *F.oxysporum* و*F.solani* عند درجة حرارة 25 °س حيث تنمو المستعمرات الفطرية على الأوساط المغذية بقطر 8 و7.5 سم على التوالي بعد 6 أيام من التحضين ودرجة الحموضة الأمثل لنمو جميع أنواع فوزاريوم عند pH = 7.5 (Mohsen *et al.,* 2016). يحدث الانتشار الأولي للعامل الممرض عن طريق مياه الري والمعدات الزراعية حيث ينتشر الفطر لمسافات قصيرة (Stephen *et al*., 2003) كما وينتشر العامل الممرض لمسافات طويلة عن طريق العمليات الزراعية والتربة المصابة، إذ ينتقل المرض من خلال الاجزاء النباتية المصابة والتربة الملوثة. وهناك وسائل أخرى لانتشار المرض هي حركة الإنسان في أنحاء الحقل المصاب، أو استخدام مياه الري والأدوات المستخدمة سابقا على المحاصيل المصابة (Ajilogba *et al*., 2013).

2-3-أعراض المرض:

تختلف اعراض المرض التي يسببها جنس *Fusarium* على النبات حسب النوع، وتشمل تعفن الجذور أو الساق، والتقرح، والذبول، وتعفن الثمار أو البذور، كما يصيب الأوراق (Leslie & Summerell 2006). يمكن ان تحدث الإصابة بفوزاريوم البندورة في الجذور او في منطقة التاج، وفي أي مرحلة من مراحل نمو النبات. بعض الأنواع مثل *Fusarium oxysporum* تصيب الحزم الوعائية الناقلة، مما يؤدي لإصابة النبات بالذبول السريع (Adisa *et al*.,2018;Gupta *et al*.,2000). تظهر أعراض الإصابة اولاً على شكل اصفرار خفيف على الأوراق القديمة (Sally *et al*., 2006)، وتحدث هذه الأعراض غالباً من قاعدة الساق باتجاه الأعلى في جانب واحد او فرع واحد من النبات، حتى في الأوراق يكون الاصفرار ابتداء من العرق الوسطي في الورقة وبجانب واحد ثم ينتقل إلى الجانب الاخر، عند وصوله إلى القمة تذبل وتتساقط الأوراق قبل موعدها(Alström, 2001) . ومع تقدم المرض غالباً ما يتوقف النبات عن النمو وهنا يظهر التقزم وقد تكون كمية الثمار قليلة او لا تتشكل على الاطلاق. وعند إجراء مقطع طولي في الساق يظهر تلون في الحزم الوعائية بلون بني (Mui-Yun, 2003)، ويكون على شكل نقاط إذا أجرينا مقاطع عرضية في الساق المصابة (Burgess *et al*., 2008) ويعد التلون

أحد الصفات التشخيصية للمرض. قد تظهر على أجزاء النبات الخارجية كالساق نموات فطرية بلون أبيض او وردي او برتقالي وخاصة في الظروف الجوية الرطبة (Ajigbola and Babalola, 2013).

تظهر الأعراض المميزة للمرض نتيجة انسداد الاوعية الناقلة بالهيفات الفطرية والعوامل الناتجة عن التفاعل بين الممرض والمضيف واستجابة النبات للإصابة مثل انتاج السموم وترسب الصموغ (الراتنجات) وتشكيل التيلوزات، بعد ذلك تظهر الأعراض المميزة للمرض، مثل انكماش الأوراق وابيضاض العروق والذبول وتساقط الأوراق، وأخيراً موت النبات المضيف. خلال هذه المرحلة، ينتشر الفطر في النسيج البرانشيمي ويبدأ بالتكاثر على سطح النبات (Srinivas *et al.*, 2019).

أما بالنسبة لأعراض الإصابة بالفطر *F. solani* تبدأ الإصابة بظهور شحوب على الأوراق السفلى يتحول الى اللون الأصفر فيما بعد. ثم يظهر تهدل للأوراق وانحناء أعناقها وتبدأ تدريجياً بالذبول ثم الجفاف ثم يمتد الى الأفرع، حيث تؤدي الإصابة الى ذبول النبات بأكمله. وعند إجراء مقطع عرضي بالجذر الرئيسي وفي منطقة التاج الملامسة لسطح التربة يلاحظ وجود تلون بني الى داكن (الجنابي وآخرون،2015).

2-4-الفرق بين النوعين *F. oxysporum* و *F. solani*:

يحدث ذبول فوزاريوم على البندورة عند الإصابة بـ *Fusarium oxysporum*أو*Fusarium solani* . النوع *Fusarium oxysporum* يسبب عادة الذبول الوعائي على أنواع محددة من النباتات المضيفة. يضم النوع *F. solani* مجموعة كبيرة من الانماط تنتشر على نطاق واسع في التربة في جميع أنحاء العالم، يسبب تعفن الدرنات والجذر والساق. ويشمل هذا النوع 50 تحت نوع على الأقل (Schollenberger *et al.*, 2005).

التعريف الدقيق لفوزاريوم على أوساط الزرع يحتاج إلى نوعين من الاوساط هما: اغار قطع أوراق القرنفل carnation leaf-piece agar (CLA) واغار البطاطا والدكستروز potato dextrose agar (PDA) او اغار البطاطا والسكروز potato sucrose agar (PSA). يستخدم وسط قطع أوراق القرنفل لتعريف أنواع فوزاريوم من خلال الحبيكة sporodochium وشكل الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia. اما وسط PDA: يستخدم

لمعرفة شكل المستعمرة والصبغة التي يفرزها الفطر في الوسط (Summerell *et al*. 2003). معايير التصنيف الشكلي لأنواع الجنس *Fusarium* تتضمن شكلين: التصنيف الاولي بناءا على شكل الابواغ الكونيدية الكبرى والابواغ الكونيدية الصغرى وشكل خلايا الحوامل البوغية conidiogenous cells والابواغ الكلاميدية chlamydospores، اما التصنيف الثانوي فيتضمن معدل نمو المشيجة الفطرية والصبغة التي تنتجها في الوسط. اما بالنسبة للصفات المجهرية للفطر *Fusarium* تتضمن سلوك المستعمرة على وسط PDA او PSA (معدل النمو الفطري وشكل المستعمرة) وصفات الابواغ الكونيدية الكبرى على الحبيكة (شكل وابعاد البوغ وشكل الخليتين القمية والقاعدية) و الابواغ الكونيدية الصغرى على المشيجة (الوفرة والشكل وكيفية التوضع في سلاسل او على رؤوس كاذبة) والحوامل البوغية (وحيدة او متعددة الخلايا وهل هي قصيرة ام طويلة) والابواغ الكلاميدية (الشكل ، سماكة الجدار ، اللون والترتيب) (Booth 1971, Gerlach & Nirenberg 1982, Nelson *et al*. 1983, Summerell *et al*. 2003, Leslie & Summerell 2006). سابقاً كان تصنيف أنواع الجنس فوزاريوم يعتمد على الصفات الشكلية اما الان فهناك طرق حديثة للتصنيف مثل أنماط الاستقلاب والتقنيات الجزيئية (Abedi-Tizaki & Sabbagh 2012).

2-4-1-الصفات الزرعية Macroscopic features للنوع *Fusarium oxysporum* (Ismail et al.,2015)

الطور الكامل غير معروف، ومعدل نمو المشيجة على وسط PSA بعد 4 أيام قطر المشيجة 4.5-6.35 سم وبمتوسط ± انحراف معياري= 4.09±0.52. المشيجة بيضاء رقيقة مع صبغة بلون زهري أرجواني او أرجواني رمادي او أبيض مع صبغة بنفسجية اما معدل نمو المشيجة على وسط PDA بعد 10 أيام فيتراوح من 7 إلى8.25 سم وبمتوسط ± انحراف معياري يساوي 0.43 ± 7.05. وتراوحت ألوان المشيجة Mycelium من الأبيض إلى الأبيض السكري كما يمكن أن ينتج الفطر *F. oxysporum* عادة صبغة في الوسط بلون بنفسجي باهت او بني فاتح أو أزرق أو أرجواني.

2-4-2-الصفات المجهرية Microscopic features للنوع *Fusarium oxysporum* (Ismail *et al.*,2015)

الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia مغزلية مستقيمة إلى منحنية قليلاً، رقيقة الجدران، عادة ما تحوي 3-5 حواجز، أبعادها 27-60 × 3-5 ميكرومتر. فيها خلية قمية مستدقة ومنحنية وخلية قاعدية على شكل قدم. غالبا ما تكون هذه الابواغ متفرقة في معظم السلالات وعادة تكون موجودة على الحبيكة sporodochium

الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia كثيرة، بيضاوية الشكل، مستقيمة إلى منحنية قليلا، عادة غير مقسمة، حجمها 5-12 × 2-3.5 ميكرومتر. تتوضع على رؤوس زائفة على الحوامل البوغية أحادية الفياليد.

الابواغ الكلاميدية Chlamydospores تتشكل بسرعة وتكون كثيرة العدد، عادة منفردة او على شكل أزواج او في مجموعات أو في سلاسل قصيرة. قد تكون الأبواغ طرفية أو بين خلايا المشيجة وتكون ذات جدران ناعمة أو خشنة.

يتميز *Fusarium oxysporum* في إنتاج الابواغ الكونيدية الصغرى في رؤوس كاذبة على حوامل كونيدية قصيرة وحيدة الفياليد monophialidic وإنتاج الأبواغ الكلاميدية. ومع ذلك، يصعب تمييز عزلات *F. oxysporum* عن عزلات *F. solani* و *F. subglutinans*، لكن *F. solani* تشكل الابواغ الكونيدية الصغرى على رؤوس كاذبة على حوامل كونيدية وحيدة الفياليد طويلة جدًا. يتم تمييز *F. subglutinans* عن *F. oxysporum* بتكوين ابواغ كونيدية صغرى على حوامل كونيدية وحيدة الفياليد او متعددة الفياليدات مع غياب الابواغ الكلاميدية. أيضا، يمكن للفطر *F. oxysporum* أن ينتج إنزيم اليورياز بينما *F. solani* لا ينتج. يمكن أن ينتج *F. subglutinans* مركب acetyl methyl carbinol لكن *F. oxysporum* لا يمكنه إنتاجه.

عزل Kamel وآخرون (2007) النوع *F. oxysporum* من نباتات البندورة المصابة من مواقع مختلفة في مصر. عزلات *F. oxysporum* متخصصة بالعائل، مما أدى إلى تقسيم الأنواع إلى سلالات وأشكال نموذجية تعكس التخصصية في مسببات الأمراض النباتية (Booth 1971).

2-4-3-الصفات الزرعية Macroscopic features للنوع *Fusarium solani* (Ismail et al.,2015)

الطور الكامل Telemorph هو *Haemanectria haematococca* و *Nectria haematococca*

معدل نمو المشيجة على وسط PSA بعد 4 أيام مشيجة هوائية كثيفة يتراوح قطرها من 4 إلى 7.2 سم وبمتوسط ± انحراف معياري= 5.58 ± 6.25، بيضاء اللون بدون أي صبغة او أبيض مائل للأصفر او تنتج صبغة برتقالية اللون او ذات لون اصفر باهت او اصفر ذهبي او مشيجة بيضاء وتنتج صبغة بلون بني فاتح او بلون اخضر مائل للرمادي او صبغة بلون ازرق غامق. اما النمو على وسط PDA بعد 10 أيام معدل نمو المشيجة من 7.2 إلى 9.55 سم وبمتوسط ± انحراف معياري= 6.05 ± 8.35 ويكون لون المشيجة والصبغات التي ينتجها الفطر في الوسط مشابه للون المشيجة النامية على وسط PSA.

2-4-5-الصفات المجهرية Microscopic features للنوع *Fusarium solani* (Ismail et al.,2015)

الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia تتشكل بكثرة على الحبيكة البوغية Sporodochium، عريضة مستقيمة الشكل فيها 3-7 حواجز عرضية، حجمها 33-55×4.5-6 ميكرومتر، مع خلية قمية مدببة او مستديرة أو محدبة إلى حد ما وخلية قاعدية مستديرة الشكل.

الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia كثيرة العدد بيضاوية او إهليلجية او كلوية او مغزلية الشكل، غير مقسمة او فيها حاجز واحد او اثنين، حجمها 8-16×2-4 ميكرومتر تتشكل على رؤوس كاذبة لحوامل كونيدية وحيدة الفياليد

الابواغ الكلاميدية Chlamydospores تتشكل بسرعة وتكون كروية الشكل إلى بيضاوية، رفيعة او سميكة الجدران، عادة تكون مفردة او في أزواج، أو في سلاسل قصيرة.

يمكن التعرف بسهولة على النوع *Fusarium solani* الصفة المميزة لهذا النوع هي الحوامل البوغية وحيدة الفياليد، يمكن الخلط بينه وبين *F. oxysporum* في العديد من الصفات. ومع ذلك، يمكن تمييزه عن طريق الحوامل الكونيدية فهي قصيرة عند *F. oxysporum* وطويلة عند *F. solani*. والابواغ الكونيدية الصغرى لـ *F. solani* أعرض، وأكثر بيضاوية في الشكل، وذات جدران أكثر سماكة من تلك الموجودة في *F. oxysporum*. كما يمكن تمييزها عن طريق الصبغة التي ينتجها الفطر في وسط أغار المانيتول فهي بلون برتقالي عند النوع *F. solani* وارجوانية عند النوع *F. oxysporum*. كما ان النوع *F. solani* غير قادر على إنتاج إنزيم اليورياز على عكس *F. oxysporum*. يعتبر النوع *F. oxysporum* من أكثر أنواع *Fusarium* انتشاراً ويمكن عزله من معظم أنواع الترب (القطب الشمالي أو الاستوائية أو الصحراوية، المزروعة او غير المزروعة) (Leslie & Summerell 2006).

2-5-آلية حدوث المرض:

عند توفر العائل تهاجم هيفات الفطر المجموع الجذري، وتنمو في المسافات البينية للخلايا، وتصل الخيوط الفطرية إلى الأوعية الخشبية الناقلة وتستقر فيها، ويمكن أن ينسد الوعاء بالخيوط الفطرية والأبواغ الكونيدية الصغيرة أو عديدات السكر الناتجة عن الفطر، ويزداد الانسداد للوعاء الناقل من نواتج الخلايا بفعل أنزيمات الفطر الممرض حيث تسهل الإنزيمات تغلغل الفطر في المضيف النباتي (Babalola, 2010a). وأشار الباحثان Drysdale وLangcalce (1974) أن الفطر ينتج عدة أنزيمات منها إنزيم Polygalacturonase الذي يلعب دوراً في القدرة الإمراضية للفطر حيث يهاجم المركبات البكتينية في جدار الأوعية الناقلة والقصيبات، الأمر الذي يؤدي إلى تحلل الصفيحة الوسطى لجدار خلايا الخشب، وأنزيم Pectinmethylestrase الذي يلعب دوراً ثانوياً في إحداث الإصابة. بينما لاحظ الشكري (1991) أن الفطر يفرز عدة سموم فطرية مثل Fusaric acid وLycomarsmine

والتي تؤثر على نفاذية الخلايا للماء فتفقد النباتات المصابة بخار الماء بسهولة أكثر من النباتات السليمة. وتسبب السموم أيضاً اضطراباً في التنفس لربطها بعض المعادن مثل الحديد والنحاس، فتعطل العامل المرافق للإنزيمات ووظائف أيضية أخرى.

بعد انبات الابواغ الكونيدية في التربة، يدخل العامل الممرض من خلال أطراف الجذور حيث يخترق الفطر العائل اختراقاً مباشراً عبر الفتحات الطبيعية أو من خلال الجروح المتشكلة عن طريق الديدان الخيطية أو جروح التشتيل أو الناتجة عن العمليات الزراعية. عندما تستعمر الهيفات الفطرية الجذور تحدث تعديلات على الجدار الخلوي هذه التعديلات قد تكون بسبب إنتاج انزيم الكيتيناز chitinase بالإضافة إلى انه أثناء اختراق العامل الممرض القشرة الخارجية للجذر يتشكل حاجز من الكالوس في موقع الاختراق الفطري ويعتبر دخول الفطر إلى الجذر عبر اختراق جدار الكالوس المتشكل في موضع الجروح أمراً مستحيلاً ولكن الانزيمات تساعد في تسهيل اختراق *Fusarium* مضيفه النباتي (Babalola, 2010a). الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia تغزو الاوعية الخشبية وتعيق عملية صعود الماء والمواد الغذائية. والخلايا الغربالية في الساق تمنع الابواغ الكونيدية من الانتشار مما يؤدي إلى انباتها ونموها في هذه الخلايا الغربالية وتواصل الانبات حتى يتم انسداد الاوعية الناقلة. وهذا يمنع وصول الماء إلى النبات مما يؤدي إلى ظهور اعراض الذبول. في معظم الحالات، تظهر الأعراض خلال شهر ونصف على النباتات القديمة وتتكاثف تدريجياً ويظهر الذبول أولاً على الأوراق القديمة السفلية ويمتد تدريجيا نحو الأعلى إلى الأوراق العليا الحديثة. الأوراق والأغصان أو حتى النبات كله يتحول إلى اللون البني في وقت لاحق ثم يجف ويموت (Khan and Khan, 2002). سبب موت النبات هو عدم قدرة الاوعية الناقلة على تلبية الاحتياجات المائية للنبات (Burgess *et al.*, 2008)

عندما يموت النبات تنمو الابواغ في الأنسجة المحيطة وتقوم بتشكيل الابواغ الكلاميدية chlamydospores التي تبقى في مخلفات النبات والتربة (Jones, 2000). الابواغ الكلاميدية يمكن أن تبقى في التربة حتى تتوافر الرطوبة الملائمة كي تنبت. وجود الكائنات الحية الدقيقة المضادة، وعدم كفاية الرطوبة وقلوية الوسط، تمنع انتاش الابواغ او يكون الانتاش ضعيفاً.

2-6-القدرة الإمراضية للفطر المسبب:

يعد ذبول فوزاريوم من أهم الأمراض التي تصيب البندورة (*Solanum lycopersicum* L.). وفي دراسة قام بها Isaac وآخرون (2018) في المكسيك تم تحديد وتوصيف أنواع الجنس فوزاريوم التي يمكن أن تسبب ذبول البندورة باستخدام الطرق الشكلية والجزيئية وكانت 38 عزلة منها *Fusarium oxysporum* وعزلتان *Fusarium sp*. كما قُيمت العزلات من حيث الإمراضية على شتلات بندورة سليمة حيث ظهر تعفن الجذور بعد 20-35 يوم من العدوى وكانت نسبة حدوث المرض تتراوح من 10 إلى 85٪. وكشف كلا التحليلين الشكلي والجزيئي أن مسبب ذبول البندورة في المكسيك هو *F. oxysporum*.

قام Rozlianah and Sariah (2010) بتعريف 22 عزلة مختلفة من فوزاريوم عزلت من البندورة في الكاميرون، بناءً على خصائصها الزرعية والشكلية وهي تابعة للأنواع الخمسة التالية *Fusarium oxysporum*، *F. solani*، *F. moniliforme*، *F.chlamydosporum*و *F. lateritium* . وبناءً على اختبار الإمراضية تبين ان النوع *Fusarium oxysporum* هو المسبب الأساسي لذبول فوزاريوم على البندورة حيث بلغت نسبة الإصابة على صنف البندورة Baccarat 322 بنسبة 65.55% بالمقارنة مع صنف البندورة Cherry بنسبة 29.44% بعد 6 أشهر من العدوى.

في دراسة لـChehri (2016) قام بعزل وتحديد أنواع فوزاريوم من البندورة المصابة بناءً على الخصائص الشكلية والجزيئية. عزل 25 عزلة من *Fusarium* من جذور نبات البندورة المصابة التي تم جمعها من الحقول في مناطق مختلفة من غرب إيران. بناءً على الصفات الشكلية، تم تصنيف العزلات إلى أربعة أنواع من *Fusarium* التالية: *F. oxysporum* و *F. redolens* و *F. proliferatum* و *F. verticillioides*. تم تقييم إمراضية جميع العزلات على شتلات البندورة السليمة في البيوت البلاستيكية. وأظهر اختبار الإمراضية ان 3 عزلات من النوع *F. oxysporum* كانت عالية الشراسة بينما كانت الأنواع الأخرى ضعيفة الشراسة.

يسبب فوزاريوم تعفن ثمار البندورة حيث قام Murad وآخرون (2016) بأخذ عينات من أنحاء ماليزيا وتم تحديد الأنواع الفطرية المسببة للمرض بناءً على الصفات المورفولوجية للفطر وتحليل تسلسل النكليوتيدات وتعبير

جينة عامل الاستطالة (*tef1-α*) α-1. تم اكتشاف خمسة أنواع من *Fusarium* وهي *F. oxysporum* (*F. oxysporum f. sp. lycopersici*)، *F. solani*، *F. equiseti*، *F. proliferatum* و *F. verticillioides*.

وفي دراسة أعدت لمعرفة الاختلافات المورفولوجية والقدرة الإمراضية لعزلات الجنس *Fusarium* والمسببة لمرض الذبول الوعائي في سوريا (مهنا وآخرون.2019) جمعت 63 عينة من ست محافظات (دمشق، ريف دمشق، حماة، السويداء، اللاذقية وطرطوس) ومن عوائل مختلفة (البندورة، الفليفلة والباذنجان). تم عزل وتنقية هذه العزلات وتوصيفها مورفولوجياً. أمكن توصيف 59 عزلة مخبرياً منها 32 عزلة تنتمي للنوع *F. solani* منها ستة عزلات من نباتات البندورة و25 عزلة من نباتات الفليفلة وعزلة واحدة من الباذنجان، و26 عزلة تنتمي إلى النوع *F. oxysporum* منها 11 عزلة مأخوذة نباتات البندورة و15 عزلة من نباتات الفليفلة. تراوح قطر النمو على الوسط المغذي للمستعمرات الفطرية بعد 10 أيام بين 4.5 – 9 سم و5.6 –9 سم للنوعين على التوالي.

2-7-مكافحة مرض ذبول فوزاريوم:

يعد ذبول فوزاريوم صعب المكافحة لأنه يستقر في الحزم الوعائية داخل النبات ويبقى في التربة على شكل ابواغ ساكنة في غياب النبات المضيف لفترة طويلة (Yadeta & Thomma, 2013).

وقد تم اقتراح العديد من الاستراتيجيات لمكافحة هذا الممرض ومع ذلك، فإن محاولات مكافحة هذا المرض قد حققت نجاحاً محدوداً بسبب ظهور سلالات ممرضة جديدة .(Juliano *et al*., 2005) تشمل طرق المكافحة التي تم استخدامها في مكافحة المرض المكافحة الزراعية والحيوية والكيميائية واستخدام الأصناف المقاومة (Pottorf, 2006) واستخدام المستخلصات الطبيعية (Kimaru *et al*., 2004).

2-7-1-المكافحة الكيميائية

تعد المكافحة الكيميائية شائعة الاستخدام، فيقلل تعقيم البذار سطحياً بالمبيدات الفطرية الإصابة بذبول فوزاريوم على البندورة ولكنها تعتبر مكلفة وغير مرغوب فيها من الناحية البيئية (Song and Goodman,2001).

يعد بروميد الميثيل من المبيدات واسعة الطيف التي تستخدم لتبخير التربة قبل الزراعة ولكنها طريقة غير امنة بيئياً (وير،2003). ومن المواد الكيميائية المستخدمة في مكافحة فوزاريوم prochloraz، propiconazole، thiabendazole، carbendazim، benomyl، thiophante، fuberidazole وجميع البنزيميدازول benzimidazoles (Bawa,2016).

أدى الاستخدام المتكرر والكبير للمبيدات الكيميائية والأثر المتبقي لها وتطور المقاومة لدى الآفات لهذه المبيدات والاضرار الكبيرة لصحة الانسان والبيئة إلى تحفيز البحث عن طرق جديدة للمكافحة، كما تعتبر المبيدات أكثر فعالية على الأمراض النباتية التي تصيب المجموع الخضري منها على الأمراض التي تصيب الجذور وتنتقل عن طريق التربة (Recycled Organics Unit, 2006)

اختبر Matar (2012) فاعلية ثلاثة مبيدات فطرية كيميائية جهازية : Bavistin(carbendazim 50% WP) ، Tachigarin (himexazol 30%) ، Beltanol SL(chinosol 50%) من مجموعة Quinoline، إضافة إلى المبيد الحيوي (*Trichoderma harzianum*) Biocont-T WP في مكافحة مرض ذبول فوزاريوم على البندورة واستخدمت المبيدات بطريقتين: 1- ري تربة الشتول بمحاليل المبيدات بعد الزراعة مباشرة ،2- تغطيس جذور الشتول بمحاليل المبيدات قبل الزراعة مباشرة أظهرت النتائج كفاءة جميع المبيدات المستخدمة في تخفيض نسبة الإصابة وشدتها قياساً بالشاهد عند استخدامها بكلتا الطريقتين كما تفوق المبيد Beltanol على بقية المبيدات المختبرة وخاصة عند ري لتربة بعد الزراعة .

أشارت نتائج اختبار المبيدات الكيميائية الفطرية Alliette express (fosetyl-Al) وRidomil Gold (mancozeb +metalaxyl-M)وDithane-M45 (mancozeb)وProdazim (carbendazim) و Tachigazol (Hymexazol) و Beltanol (Chinosol)الذي أجراه Mannai وآخرون (2018) على شتول الخوخ في المشاتل التونسية بعد ثلاثة أشهر من العدوى بالفطر*F. oxysporum* و*F. solani* ، أن مبيدات الفطريات Alliette Express وDithane-M45 وRidomil Gold وProdazim كانت الأكثر فاعلية في

حماية النبات ضد *F. oxysporum*، في حين أن Beltanolهو المبيد الوحيد الذي حسن نمو الشتلات المعداة بـ *F. solani*.

2-7-2-الأصناف المقاومة

تعد معرفة الممرض وسلالاته الفيزيولوجية جانب مهم في مكافحة المرض، بالإضافة إلى أنه يسمح للمزارع باختيار الأصناف الأنسب للزراعة (do Amaral *et al.*, 2008). حتى الآن، تم تعريف ثلاث سلالات فيزيولوجية 1 و2 و3، والتي تم تعريفها في الموقع: *i-1* و*i-2* و*i-3*، الذي يمنح العامل الممرض مقاومة، من خلال المورثات السائدة (Scott *et al.*, 2004; Panthee and Chen, 2010; Malafaia *et al.*, 2013) كما يعد استخدام أصول تطعيم البندورة المقاومة لذبول فوزاريوم وسيلة ناجحة في مكافحة المرض (King *et al.*,2008).

قام Sagitov وآخرون (2010) بتقييم حساسية سبعة أصناف من البندورة المزروعة تجاه الممرض *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* في ظروف البيت الزجاجي في كازاخستان. أظهرت نتائج التقييم أن الأصناف المختبرة يمكن تصنيفها إلى ثلاث مجموعات: المجموعة 1 هي الأصناف الحساسة، المجموعة 2 هي الأصناف عالية المقاومة والمجموعة 3 هي الأصناف ذات المقاومة المتوسطة. كانت جميع المؤشرات المدروسة (صفات النمو وانتاجية النبات) أقل بشكل معنوي في النباتات المعداة مقارنة بالنباتات غير المعداة لمعظم أصناف البندورة المختبرة. كما أظهرت النتائج أن الأصناف عالية المقاومة يمكن استخدامها كأصول مقاومة في برامج تربية نبات البندورة. كما كانت النباتات متوسطة المقاومة مبكرة بالإنتاج مقارنة بالأصناف شديدة المقاومة.

تم اختبار القدرة الإمراضية لثلاث عزلات من الفطر *F. oxysporum f. sp. lycopersici* من قبل الشبلي وآخرون (2011) تم الحصول عليها من مناطق جغرافية مختلفة في محافظة درعا على خمسة أصناف من البندورة. حيث تباينت العزلات الثلاث في قدرتها الإمراضية تبعاً لنوع العزلة والصنف، وتباينت الأصناف في قابليتها للإصابة بالعزلات المختبرة.

وفقاً لـ Inami وآخرون (2012)، ظهرت السلالة الثانية من فوزاريوم *Fol* Race 2 من خلال فقدان مورثة الشراسة avr1 من السلالة 1، أو من خلال تعطل وظيفة المورثة avr1، او عن طريق ادخال جينات قافزة

Transposons، بينما ظهرت السلالة 3 بحدوث طفرة في مورثة الشراسة avr2. العديد من السلالات الفطرية تحمل مورثات عدم الشراسة: avr1 وavr2 وavr3، والتي تتعرف عليها جينات المقاومة المقابلة في البندورة وبهذا تحفز الاستجابة الدفاعية للنبات ضد الممرضات (Rep *et al.*, 2004; Houterman *et al.*, 2009) فهناك عدد قليل من الأصناف التجارية للبندورة تملك صفة المقاومة لفوزاريوم السلالة 3. حيث تهاجم هذه السلالة أصناف البندورة بمواقع المقاومة *i* و*i-2*، كما وُجدت صفة المقاومة للسلالة 3 في النوع البري *Solanum pennellii* P1414773 (Catanzariti *et al.*, 2015).

قام Akaeze وModupe (2017) باختبار حساسية 9 أصناف من البندورة المزروعة في نيجيريا اتجاه الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، من بين الأصناف التسعة التي تم تقييمها، أظهر Tomato Shanty $^{+}$N مقاومة معتدلة تجاه *F. oxysporum*، بينما كان البعض الآخر قابل للإصابة.

وفي بحث أجري لدراسة الدور التعاضدي لمرض ذبول فوزاريوم والنيماتودا على بعض هجن البندورة في الساحل السوري وإدارتهم المتكاملة، وتقدير نسبة وشدة الإصابة بالفطر الممرض (خفتة وآخرون، 2018). أبدت الهجن اختلاف في قابليتها للإصابة بذبول فوزاريوم.

وفي دراسة لـ Bolandnazar وآخرون (2014) أثبت ان استخدام أصل تطعيم البندورة Efialto المقاوم لذبول فوزاريوم البندورة *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* يعتبر وسيلة مكافحة ناجحة للمرض.

كما أظهر صنف البندورة القابل للإصابة F .Potentate عند تطعيمه على أصول التطعيم التي تم الحصول عليها من *Lycopersicon hirsutum glabratum* X *L. esculentum* مقاومة عالية لذبول فوزاريوم (Harrison and Burgees, 1962)

يُعرف النوع *Lycopersicon pimpinelufolium* بمقاومة عالية للسلالة الامريكية الشرسة لفوزاريوم (Bohn and Tucker, 1939) وتم استخدامه في إنتاج أصناف تجارية مقاومة للإصابة بذبول فوزاريوم على البندورة (Doolittle, 1954) كما ظهرت مقاومة عالية لسلالات ذبول فوزاريوم 1 و2 و3 في الأنواع البرية التالية

Lycopersicon hirsutum، *L. chilense*، *L. pennellii* و *L. peruvianum* الذي مكن من استخدامها في برامج التربية لإنتاج أصناف مقاومة للذبول (Reis *et al*., 2004)

2-7-3-المكافحة الحيوية

المكافحة الحيوية هي عبارة عن استخدام الأعداء الطبيعية لمكافحة الآفات وتعد أفضل بديل لمكافحة الأمراض باستخدام المواد الكيميائية. ولتوفير طريقة مكافحة صديقة للبيئة ضد مرض ذبول فوزاريوم ولصعوبة مكافحته تم استخدام الكائنات الحية الدقيقة المضادة (Lugtenberg and Kamilova, 2009).

عوامل المكافحة الحيوية Bio control agents (BCAs) لها أهمية كبيرة في برامج الإدارة المتكاملة للآفات ويمكن أن تحمي المحاصيل بعدة طرق (Jacobsen *et al*. 2004) فتقوم بعض الأنواع البكتيرية بقمع مسببات الأمراض والآفات النباتية عن طريق إنتاج المضادات الحيوية، في حين أن بعض الأنواع الأخرى قد تحفز بشكل مباشر امتصاص المغذيات من قبل النباتات وتحسن استخدام الماء والتغذية المعدنية، إما من خلال تعزيز التعايش مع بكتيريا الرايزوبيوم (Rhizobia) وفطريات الميكوريزا (Mycorrhiza) أو عن طريق تثبيت نيتروجين الغلاف الجوي مباشرة (Gardener, 2004).

عوامل المكافحة الحيوية مثل *F. oxysporum* و*Trichoderma hamatum* و *Gliocladium virens* و*Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus cepacia* تقلل من إصابة نبات البندورة في البيوت البلاستيكية بذبول فوزاريوم بنسبة 35-100% (Larkin and Fravel, 1998).

2-7-3-1-آليات تأثير عوامل المكافحة الحيوية

التفاعل الذي يحدث بين العامل الممرض والكائن المضاد والنبات قد يكون مباشراً أو مختلطاً أو غير مباشر (Pal and Gardener, 2006) يمكن أن يشمل التفاعل المباشر التطفل والافتراس بينما يمكن أن يشمل التفاعل غير المباشر المنافسة، اما التفاعل المختلط فيمكن أن يشمل الحالة السائدة عندما يقوم الكائن الحي بتثبيط

نمو كائن حي آخر عن طريق إنتاج المستقلبات دون أن يتأثر هو نفسه، أي مضاد التحلل والمحلل antibiosis and lysis.

التطفل والافتراسParasitism and predation : التطفل الميكروبي يتضمن تعرض الممرض للهجوم المباشر أو القتل. مثال ذلك التطفل الفطري Mycoparasitism، وفي هذه الحالة يقتل الطفيل الفطريات العائل عن طريق إفراز إنزيمات تفكك جدار الخلية. وهذا يمكن أن يساعد في خلق ثقوب في هيفات الفطر وتسبب موته عن طريق امتصاص العناصر الغذائية منه. موت الفطر يمكن أيضا أن يكون نتيجة لقطع الاتصال بين الفطريات. (Babalola, 2010a; Babalola, 2010b; Babalola, 2010c).

التنافس Competition: هناك منافسة بين الميكروبات على المواد الغذائية، نتيجة للموارد الغذائية المحدودة في منطقة المحيط الجذري. هناك مثال على ذلك فيما يتعلق بالكمية المحدودة من الحديد في التربة. هذا يؤدي إلى انتاج السيدروفورSiderophores لامتصاص الحديد من البيئة. عندما يتم انتاج السيدروفور، يتم توفير الحديد للكائن الحي الذي ينتج السيدروفور بينما يحرم الكائن الحي الآخر؛ هذا يمكن أن يؤدي إلى كبح العديد من الممرضات الفطرية، حيث يرتبط السيدروفور بالحديد Fe^{+3} ثم يتم استقبال المعقد Sidrophore+ Fe^{+3} من قبل مستقبلات غشائية في الخلية والكائن الحي المنتج للسيدروفور يسمح لهذا المعقد بالدخول إلى سيتوبلاسما الخلية ليتم ارجاع Fe^{+3} إلى Fe^{+2} ثم يتم تحريره من جزيئات السيدروفور.

التضاد Antibiosis: التضاد يتم من خلال افراز السموم او المواد الايضية الميكروبية التي ينتجها الكائن المضاد لتحد من نمو الكائن الممرض أو تقتله تماما بينما لا يتأثر الكائن المضاد بهذه المواد (Pal and Gardener, 2006) تنتج بعض الكائنات الحية المضادة فقط مستقلباً واحداً، بينما يُعرف أن بعض الكائنات الحية المضادة تنتج مستقلبات متعددة حتى تكون فعالة ضد ممرض واحد أو أكثر.

إذابة الفوسفات Phosphate solubilization: يتضمن تذويب الفوسفات تحرير الفسفور القابل للذوبان من فوسفات الكالسيوم غير القابل للذوبان (Ca PO4) بعض البكتيريا قادرة على إذابة الفوسفات المعدني وإتاحته

للنباتات (Babalola, 2010d). تطبيق الميكروبات القابلة لإذابة الفوسفات *Pseudomonas*،*Bacillus* ، *Aspergillus*،*Trichoderma*، *Enterobacter* و*Agrobacteria* حول جذور النباتات وفي التربة والأسمدة تحرر الفوسفات القابلة للذوبان، وتعزز نمو النبات وتحمي النباتات من العدوى بمسببات الأمراض.

إنتاج سيانيد الهيدروجين Hydrogen cyanide production: السيانيد هو مركب متطاير مثبط للنمو الجرثومي (Bakker and Schippers, 1987)وحمض سيانيد الهيدروجين هو مستقلب ذو وزن جزيئي منخفض، وهو مبيد حيوي له نشاط مضاد للفطريات (Babalola, 2010d). يمكن أن تؤثر المواد المتطايرة التي تنتجها البكتيريا على كل من معدل نمو الفطريات ونشاطها الإنزيمي (Fiddaman and Rossall,1995) وتمنع إنبات الأبواغ لمجموعة متنوعة من الأنواع الفطرية.

المقاومة الجهازية المحرضة Induced systemic resistance: تشير ISR إلى قدرة النبات على تحفيز ردود الفعل الدفاعية نتيجة لبعض العوامل المحرضة الحيوية أو اللاحيوية من مسببات الأمراض. عندما تتفاعل النباتات ومسببات الأمراض، قد يكون التفاعل توافقي ويؤدي إلى حدوث المرض. أو لا توافقي ويؤدي إلى حدوث مقاومة من قبل النبات. يمكن أن تكون المقاومة موضعية أو جهازية اعتماداً على استجابة النبات. عندما تكون الاستجابة غير توافقية، يمكن أن تكون المقاومة في النبات بمثابة ضغط تأكسدي يؤدي إلى موت المُمْرِض موضعياً. يمكن أن يؤدي أيضاً إلى إنتاج منتجات مضادة للميكروبات مثل الفيتوأليكسينات والبروتينات المرتبطة بالإمراضية حيث ذكرت بعض الدراسات أن بعض سلالات *B. cereus*،*B. sphaericus*، *B. subtilis* ، *B. pumilus*،*B. amyloliquefaciens* ، *B. pasteurii* و*B.mycoides* تحفز المقاومة الجهازية المستحثة ISR في النباتات المعاملة بهذه السلالات في تجارب البيت البلاستيكي أو التجارب الحقلية على البندورة (Heil and Bostock, 2002; Kloepper *et al*, 2004).

تهدف استراتيجية المكافحة الحيوية إلى استبدال مبيدات الآفات الكيميائية بعوامل المكافحة الحيوية، وكأحد طرق المكافحة الحيوية، استخدام البكتيريا الجذرية المحفزة لنمو النبات PGPR: plant growth promoting rhizobacteria ، وتعتبر ال PGPR كائنات حية دقيقة مفيدة للنبات موجودة في منطقة المحيط الجذري تحفز

نمو النبات من خلال تثبيت النيتروجين ، وإذابة الفوسفور ، وإنتاج المواد الحاملة للحديد ، والمركبات العضوية ، وتوفر له الحماية من العوامل الممرضة من خلال إنتاج إنزيمات تفكك جدران الخلايا الفطرية مثل الكيتيناز ، والغلوكاناز ، والبروتياز ، والليباز ، والأميلاز الذي يحفز المقاومة الجهازية المستحثة للنبات (ISR) (Vejan *et al*, 2016 ; Zouari *et al*, 2016; Mhlongo *et al,* 2018) يعرف عن البكتيريا الجذرية المحفزة لنمو النبات PGPR بأنها تشجع نمو النبات وتخفض من إصابة المحاصيل بالأمراض (Jetiyanon and Kloepper, 2002). قسمت البكتيريا PGPR حسب موقعها من جذر النبات إلى بكتيريا خارج خلوية E PGPR تتواجد بجوار ومحيط الجذر، وبكتيريا داخل خلوية I PGPR تتواجد بين الخلايا وداخلها.

من عوامل المكافحة الحيوية الكائنات الحية الدقيقة المعززة لنمو النبات PGPM: plant growth promoting microorganisms، التي يمكن أن تنظم نمو النبات عن طريق تحفيز الاستجابات الدفاعية في النباتات المقاومة الجهازية المحرضة ISR والمقاومة الجهازية المكتسبة SAR (Akkopru &Demir 2005, Siddiqui 2006).من بين PGPM، فطريات الميكوريزا الشجرية (AM) المتعايشة مع جذور النبات (Pozo *et al.,* 2002)

يطلق مصطلح الميكوريزا Mycorrhiza على مجموعة من الفطور التي تتعايش مع جذور بعض النباتات اذ يقوم الفطر بالحصول على المواد العضوية عن طريق جذور النبات ويقوم بالمقابل بإمداد النبات العائل بالأملاح المعدنية بالإضافة إلى مساعدته على تحمل الإجهادات البيئية والحيوية كما يمكن للميكوريزا ان تشكل عاملاً مهماً في المكافحة الحيوية (Smith and Read,2008; Pawaar and Kakde,2012) وأن تسهم جزئياً في حماية البنات من الممرضات المحمولة بالتربة، وتزيد تحمله للإصابة بفطور الذبول وأعفان الجذور مثل *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* (Abdel–Fattaha *et al*.,2011) هناك عدة آليات تقوم بها فطريات الميكوريزا لحماية النبات منها: اتاحة العناصر الغذائية للنبات، المنافسة مع العوامل الممرضة على الغذاء والمكان، احداث التغيرات المورفولوجية للنبات وتشكيل حاجز حماية، احداث تغير في المركبات الكيميائية المتعلقة باستجابة

النبات الدفاعية، تخفيف الإجهادات الفيزيائية، التأثير على المجتمعات الميكروبية في منطقة المحيط الجذري(Vierheilig, 2004).

قام Akkopru و Demir (2005) باستخدام فطريات الميكوريزا المفصلية (AMF) مثل *Glomus intraradices* وبعض البكتيريا سالبة الغرام وبكتيريا المحيط الجذري الوميضية (RB)، *P. fluorescens*، *P. fluidaescens*، *P. putida* و*Enterobacter cloaceae*. التي تم عزلها من المحيط الجذري لنباتات العائلة الباذنجانية Solanaceae في المكافحة الحيوية فكانت فعالة ضد *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.* .

في دراسة أجرتها El-Khallal (2007) بينت تأثير علاج نبات البندورة المصاب بالفطر *Fusarium oxysporum* باستخدام الميكوريزا الشجرية AM والرش بالهرمونات المحفزة لنمو النبات (حمض الصفصاف SA وحمض الياسمين JA) لثلاث مرات حيث انخفضت شدة المرض% بشكل كبير فحققت المعاملة بالميكوريزا وحمض الياسمين معاً أعلى فعالية 92٪ كفاءة.

قامت رزق (2014) بدراسة تأثير فطر الميكوريزا *Glomus* في ذبول فوزاريوم على البندورة في الزراعة المحمية وتبين انخفاض في شدة الإصابة بمرض الذبول عند النباتات المعاملة بالميكوريزا والفوزاريوم معاً إلى 33% مقارنة بالشاهد المعدى، اذ وصلت النسبة المئوية لشدة الإصابة عنده إلى 70% وبينت النتائج زيادة معنوية في طول النبات وعدد الأوراق والوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري في النباتات المعاملة بالميكوريزا وبالفوزاريوم معاً مقارنة مع نباتات الشاهد المعدى

يُعّد الفطر *Trichoderma* أكثر عوامل المكافحة الحيوية المستخدمة في مكافحة الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة (ساكنات التربة) بما فيها *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. يحيط فطر تريكوديرما بجذور النبات ويعزز آلية تحريض نمو الجذور والنبات ويحرض مقاومة النباتات للدفاع عن نفسه ضد الممرضات من خلال المنافسة على الغذاء وإنتاج المضادات الحيوية، والتطفل الفطري (Rai *et al*. 2016).

قيّم Babychan وSimon (2017) قدرة ثماني عزلات محلية من *Trichoderma* في تثبيط الإصابة بذبول فوزاريوم وتحفيز نمو شتول البندورة، أظهرت النتائج في ظروف البيت البلاستيكي أن عزلات *Trichoderma* لم تسمح بإصابة الشتول بالذبول كما زادت طول الأفرع والجذور مقارنة بالشاهد.

في دراسة قام بها Salami وآخرون(2018) باستخدام كلا الفطرين *Trichoderma harzianum* وفطر الميكوريزا *Glomus facultative* في مكافحة ذبول فوزاريوم على البندورة في تجربة الأصص في البيت البلاستيكي. أظهرت عوامل المكافحة الحيوية انخفاضاً كبيراً في شدة المرض وزيادة في طول النبات ووزن الثمار. وكانت القدرة التضادية للفطر *G. facultative* ضد ذبول فوزاريوم أقل بالمقارنة مع *T. hazarnium*.

اختبر Kumar (2019) فاعلية عزلات محلية لأنواع *Trichoderma* في الهند في مكافحة ذبول فوزاريوم على البندورة وتعزيز نمو النبات في ظروف المخبر والحقل، خفض *Trichoderma harzianum* شدة الإصابة بنسبة 29.67% كما زاد طول النبات وطول الجذر بالمقارنة مع الشاهد.

بكتيريا المحيط الجذري Rhizobacteria تستطيع السيطرة على العديد من مسببات الأمراض من خلال العديد من الآليات منها المنافسة والتضاد والمقاومة المستحثة وتؤثر بشكل إيجابي على نمو النبات (Kloepper, 2003). تتكيف الـ Rhizobacteria للعيش في المحيط الجذري لجذور مضيفاتها النباتية حيث تعيش حياة تكافلية (Vessey, 2003; Nihorimbere *et al.*, 2011).

بالإضافة إلى الخصائص التضادية لهذه البكتيريا فهي تعمل بشكل مباشر كسماد حيوي، من خلال إنتاج هرمونات نمو النبات مثل حمض الإندول الخلي، والجبريلين، والسيتوكينين، والإيثيلين، والمعادن الذائبة، وتعمل ككائنات حية مضادة تمنع بشكل غير مباشر تطور الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض من خلال إنتاج السيدروفورات والمضادات الحيوية(McMilan, 2007; Sarma *et al.,* 2009) .

هناك العديد من الاجناس البكتيرية التي تملك صفة التضاد للأمراض الفطرية التي تصيب النبات وهي: *Streptomyces، Micromonospora، Arthrobacter، Actinoplanes،Actinomadura ، Lactobacillus، Brevibacterium، Bacillus، Aureobacterium، Mycobacterium،Nocardia ،*

Proteus، *Escherichia*، *Enterococcus*، *Streptococcus*، *Micrococcus*،*Rhodococcus* ، *Stenotrophomonas*، *Burkholderia*، *Pseudomonas*، *Serratia*، *Enterobacter*،*Klebsiella* ، *Fusobacterium*، *Clostridium*، *Azotobacter*، *Alcaligenes*،*Agrobacterium* (Kerr *et al.*,1999).

ذكرت Monda (2002) أن عوامل المكافحة الحيوية البكتيرية ذات الأنشطة الواعدة في مكافحة *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* تشمل *Pseudomonas flourescens* و *P. putida* و *P. chlororaphis* و*Bacillus subtilis* و*Streptomyces pulcher* و *S. corchorusii* و*S. mutabilis*.

في دراسة لعزل بكتيريا من جذور بعض النباتات والأجسام الحجرية والتربة ذات تأثير مضاد في الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المسبب لمرض عفن سكليروتينيا (عزام وآخرون، 2006) وجد أن 7 عزلات بكتيرية كان لها تأثير مضاد في نمو الفطر الممرض *In vitro* وأمكن تعريف ثلاث عزلات بكتيرية منها وهي تنتمي إلى جنس*Bacillus* .

أشار Someya وآخرون (2006) إلى أن استخدام بكتيريا *P. fluorescens* وجرعة منخفضة من المبيد الفطري Benomyl يلعب دوراً في المكافحة المتكاملة لفطر ذبول فوزاريوم على البندورة وتعتبر طريقة فعالة في تخفيف جرعة المواد الكيميائية المستخدمة في المكافحة.

قام Vethavalli وآخرون (2012) بدراسة القدرة التضادية لثلاث عزلات بكتيرية مختلفة ضد ذبول فوزاريوم ولكن كانت أفضلها *P. fluorescens* بنسبة تثبيط 77.22%.

أفاد Widnyana وآخرون (2013) أن ثلاث عزلات من بكتيريا المحيط الجذري لنباتات العائلة الباذنجانية Solanaceae والعائلة البقولية Leguminoseae وعرفت على أنها *Pseudomonas alcaligenes* من خلال الاختبارات البيوكيميائية والتعريف الجزيئي للمورثة 16S rRNA، أظهرت البكتيريا نشاطاً مضاداً ضد *Fusarium oxysporum* f. sp*. lycopersici* الذي يصيب نبات البندورة في البيوت البلاستيكية.

في دراسة لـ Ajilogba وآخرين (2013) تم اختبار نشاط أربعة أنواع من الجنس *Bacillus* هي *B. amyloliquefaciens* و *B. cereus* و *B. pumilus* و *B. subtilis* في المكافحة الحيوية في الزجاج *in vitro* بقياس منطقة التثبيط وفي الجسم الحي *in vivo* بحساب النسبة المئوية للمكافحة وحدوث المرض. أظهرت نتائج التحليل المخبري أن *B. amyloliquefaciens* يمنع نمو *F. solani* بشكل أكبر بنسبة 95.2٪ بينما كان أعلى نمو لـ *F. solani* مع *B. cereus*. اما نتائج التجربة على النبات كان لدى *B. cereus* أقل حالات الإصابة بالمرض وأعلى نسبة في مكافحة المرض مقارنة بالشاهد تلتها *B. amyloliquefaciens*، وتشابهت كلا العزلتين *B. pumilus* و *B. Subtilis*. أيضاً، كانت معايير النمو مثل طول المجموع الخضري وطول الجذر عند المعاملة بـ *B. cereus* أطول بكثير مقارنة مع الشاهد. توضح هذه النتيجة أن هذه الأنواع الأربعة من *Bacillus* هي عناصر فعالة للغاية في المكافحة الحيوية ويجب استخدامها في تطبيقات المكافحة الحيوية.

وفي دراسة أجريت لدراسة ظاهرة التضاد ما بين بكتيريا المحيط الجذري وفطر *Fusarium oxysporum f.sp. lentis* Vasud & Srin المسبب لمرض ذبول العدس الوعائي في ظروف المخبر (غنام وآخرون ، 2014) أظهرت 42 عزلة بكتيرية قدرة تثبيطية في نمو فطر ذبول العدس الوعائي بنسبة تثبيط تراوحت بين 37.5 % و77.5 % مقارنة مع الشاهد غير المعامل بالبكتيريا.

كما استخدم Ferraz وآخرون (2014) 3 أنواع من البكتيريا المضادة وهي *Streptomyces setonii* و*Bacillus cereus* و *Serratia* marcescens وكشاهد إيجابي استخدم حمض الياسمين JA، خفضت البكتيريا *Bacillus cereus* مؤشر الإصابة بـ *Fusarium* بنسبة 47%.

درس Shahzaman وآخرون (2016) قدرة 30 عزلة بكتيرية من *P. fluorescens* ضد *Fusarium* sp. ووصلت أعلى نسبة للتثبيط 93.33%.

توصل Hannane وآخرون (2016) أن التثبيط يعود الى التأثيرات المشتركة للمركبات الطيارة والمركبات الخارج خلوية التي تنتجها *P. fluorescens*.

بَيّن Rocha وآخرون (2017) أن استخدام الأنواع البكتيرية التالية التابعة للجنس *Bacillus* وهي: *B. toyonensis*، *B. cereus*، *B. aryabhattai*، *B. megaterium*، *B. aerius*، *B. stratosphericus* و*Paenibacillus barcinonensis*. فعالة في مكافحة فطر الذبول الوعائي على البندورة *F.oxysporum* في الزجاج وتحت ظروف البيت البلاستيكي كما ان هذه الأنواع البكتيرية معزولة من جذور نبات البندورة وأعطت نسبة مكافحة للفطر وصلت الى 100% وبين أن سبب تأثير هذه البكتيريا على الفطر هو نشاطها الإنزيمي Cellulolytic and Proteolytic activity حيث يعتبر الـCellulolytic activity هو قدرة البكتيريا على انتاج انزيم الـ cellulase الذي يفكك السيللوز ويحوله الى غلوكوز، أما الـProteolytic activity هو قدرة البكتيريا على حلمهة البروتين الى بولي ببتيد وأحماض أمينية من خلال إنتاج الإنزيم الخارج خلوي proteinase.

في دراسة قام بها Chrisnawati وآخرون (2017) لدراسة تأثير *P. fluorescens* في مكافحة *F. oxysporum* في الحقل، زادت البكتيريا مؤشرات نمو النبات وخفضت شدة المرض حيث كانت بين 14.30-16.88%.

أكد Samaras وآخرون (2018) تأثير السلالة البكتيرية *Bacillus amyloliquefaciens* على نمو نبات البندورة وفي مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*Forl*) في المخبر وعلى النبات. في التجارب المخبرية، قلل عامل المكافحة الحيوية من نمو الميسيليوم وأظهر الاستخدام المزدوج لـ *B. amyloliquefaciens* على بذور البندورة قبل الزراعة وعلى الشتلات الصغيرة قبل النقل للزراعة في زيادة طول المجموع الخضري وطول المجموع الجذري. وبشكل مماثل، أدت التطبيقات المزدوجة إلى انخفاض ملحوظ في كل من شدة المرض ومؤشر المرض (٪) مقارنة بنباتات الشاهد غير المعاملة.

بَيّن Alsudani و Alawsi (2020) أن استخدام الراشح البكتيري لبكتيريا *P. fluorescens* أعطى نسبة تثبيط وصلت لـ 83.5% للفطر *F. solani* المسبب لذبول البندورة في المخبر بعد عشرين يوم من التطبيق.

في دراسة قام بها Vignesh وآخرون (2021) حول التأثير التضادي لعشر عزلات من *P. fluorescens* ضد فطر ذبول فوزاريوم البندورة فكانت نسبة التضاد 58.75% ومسافة التضاد 37.12 مم كما قام بإجراء التضاد بطريقة التضاد بالحفرة وكانت مسافة التضاد 17.47 مم.

قام Rameriz وآخرون (2021) بدراسة تأثير البكتيريا *Bacillus cereus* المعزولة من العقد الجذرية لنبات *Prosopis laevigata* في مكافحة ذبول فوزاريوم البندورة مخبرياً وفي الأصص تحت ظروف البيت البلاستيكي.

أظهر Pazarlar وآخرون(2022) أن البكتيريا *Bacillus cereus* قامت بحماية البندورة من ذبول فوزاريوم *F.oxysporum* من خلال تحفيز مسارات المقاومة الجهازية المستحثة ISR وحث النبات على تراكم الكالوس في الجذور.

وفي بحث لـ Pelias وآخرون (2022) قام بإيجاد سلالات بكتيرية معزولة من جذور البندورة ذات تأثير تضادي لفطر *F.oxysporum* المسبب للذبول الوعائي على البندورة تنتمي هذه السلالات للجنس *Bacillus* وأحد هذه السلالات كانت تتبع للنوع *Bacillus cereus* وكان متوسط التثبيط للفطر 55%.

الفصل الثالث

مواد وطرائق البحث

Materials and Methods

3-1-جمع العينات

جُمعت 32 عينة من نباتات بندورة ظهرت عليها أعراض ذبول (نبات كامل)، وذلك من بيوت بلاستيكية في محافظتي طرطوس واللاذقية، موزعة في 15 منطقة (الجدول 1). و9 عزلات فطرية من مخبر أمراض النبات في كلية الزراعة، جامعة دمشق وهي: RS21، HR4، XR2، SR1، OH41، OH2، OH11، OH112، OH13 (الجدول 3). كما جمعت 21 عينة من نباتات بندورة سليمة ظاهرياً (جذور النبات والتربة المحيطة بها)، من نفس البيوت البلاستكية التي كانت فيها الإصابة منتشرة، ومن مواقع أخرى موزعة في 11 منطقة، بهدف عزل بكتيريا المحيط الجذري (الجدول 2) حيث تم عزل 49 عزلة بكتيرية. وضعت العينات في أكياس بولي إيتيلين، مع بطاقات عليها المعلومات اللازمة (مكان وتاريخ الجمع واسم المزارع) ونُقلت إلى المخبر.

الجدول 1: موقع ونوع وتاريخ جمع العينات النباتية التي ظهرت عليها أعراض الذبول

رقم المنطقة	العائل	المنطقة	تاريخ الجمع
1	بندورة	طرطوس -حريصون –بشنانة	09/12/2020
2	بندورة	طرطوس-بانياس -الخراب	06/12/2020
3	بندورة	اللاذقية-جبلة-العيدية	08/12/2020
4	بندورة	طرطوس -حريصون-بشنانة	09/12/2020
5	بندورة	اللاذقية -القطيلبية-الرعوش	10/12/2020
6	بندورة	طرطوس-بانياس-القلوع	06/12/2020
7	بندورة	طرطوس-بانياس-القلوع	06/12/2020
8	بندورة	اللاذقية-جبلة-زهيريات شرقية	07/12/2020
9	بندورة	طرطوس-بانياس -بتلة	06/12/2020
10	بندورة	طرطوس-بانياس -الخراب	06/12/2020
11	بندورة	اللاذقية-القطيلبية-الرعوش	10/12/2020
12	بندورة	طرطوس-حريصون-راس الوطى	09/12/2020
13	بندورة	اللاذقية-السن-الراهبية	07/12/2020
14	بندورة	اللاذقية-العيدية	08/12/2020
15	بندورة	طرطوس-بانياس-القلوع	06/12/2020

الجدول 2: رموز ومواقع العينات التي جمعت لعزل البكتيريا من جذور النبات والتربة المحيطة بها

رقم المنطقة	المنطقة	اسم المزارع	تاريخ الجمع	رموز عينات الجذور	رموز عينات التربة
1	حريصون -بشنانة	أحمد عبد الكريم	09/12/2020	A1	K1
2	جبلة -زهيريات شرقية	غدير إبراهيم	07/12/2020	B2	L2
3	بانياس-البيضا-المورد-المحيلبات	أحمد إسماعيل	15/09/2020	C3	M3
4	السن-الراهبية	طلال ونوس	07/12/2020	D4	N4
5	بانياس-البيضا-زيتون البري	أحمد إسماعيل	15/09/2020	E5	O5
6	حريصون-رأس الوطى	أحمد عبد الكريم	09/12/2020	F6	P6
7	حريصون -بشنانة	نظام صالح	09/12/2020	G7	Q7
8	بانياس-الزيرة-بتلة	علي جديد	06/12/2020	H8	R8
9	الحفة-خان زعرور	أمين زعرور	18/09/2020	I9	S9
10	الحفة-وطى الخان	سعيد شعبان دنورة	18/09/2020	J0	T0
11	السويداء	د. وائل المتني	22/04/2021	RIZN	

3-2-الفحص الظاهري للعينات المصابة بالذبول:

تمّ توصيف الأعراض الظاهرية الموجودة على كل عينة، ومقارنتها مع المراجع المختصة وتصويرها (Dimond *et al.*,1952;Booth,1971; Booth,1984 and Barnett *et al.*,1987)

3-3-الأوساط المستخدمة في عزل وتعريف أنواع الجنس ***Fusarium***:

استُخدم في هذه الدراسة وسطان مغذيان لعزل الفطر، ودراسة الصفات الزرعية والشكلية.

3-3-1-وسط أغار البطاطا والدكستروز (Potato Dextrose Agar (PDA):

حُضّر هذا الوسط بإذابة 39غرام من المستحضر الجاهز (شركة Titan Biotech) في 1ليتر من الماء المقطر في دورق زجاجي، بعدها تمّ تعقيم الوسط بالاتوكلاف بدرجة حرارة 121°س، وضغط 1.1بار لمدة 20

دقيقة، ثمّ بُرّد الوسط قليلاً وأضيف إليه المضادات الحيوية (20 mg/L) penicillin و (40 Streptomycin mg/L).

3-3-2-وسط أغار قطع أوراق القرنفل(Carnation Leaf Piece Agar (CLA :

جُمعت أوراق فتية من نباتات القرنفل، ثم قُطّعت إلى قطع صغيرة، ثم جُففت في الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 50°س لمدة ساعتين، ثم وُضعت في أوراق من الألمنيوم، وطُويت جيداً لمنع وصول الرطوبة إليها، وعُقمت بجهاز الاوتوكلاف عند درجة حرارة 121°س وضغط 1.1 بار لمدة 20 دقيقة، ثم وزّعت على أطباق بتري تحتوي وسط أغار الماء المعقم والمبرّد، (Burgess *et al.*,1994)

3-4-عزل مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة:

جُهزت العينات في المخبر لعزل المسبب المرضي، بفصل المجموع الجذري عن المجموع الخضري في مكان ظهور أعراض التلون البني في الأوعية الناقلة. ثم غُسلت الأجزاء النباتية جيداً بماء الصنبور للتخلص من التراب الملتصق، وأُخذت قطع من الساق على بعد 15 سم من الجذر، والتي تظهر عليها أعراض تلون، وقطع من الجذور والعنق الجذري. وعُقمت هذه الأجزاء بالكحول تركيز 70% لمدة ثلاث دقائق، ثم غُسلت هذه الأجزاء النباتية بالماء المقطر جيداً، وجففت بأوراق الترشيح وفي غرفة العزل. تم أخذ النسيج الذي ظهر عليه التلونات أسفل البشرة، وزرع على وسط Potato Dextrose Agar PDA في أطباق بتري، ورقمت حسب مواقعها الجغرافية. وحُضنت عند درجة حرارة 25±3°س لمدة تراوحت ما بين 48 ساعة إلى ثمانية أيام، حتى ظهور المشيجة الفطرية على الأجزاء النباتية، ثم تمّت تنقية العزلات التي ظهر بينها اختلافات ظاهرية، بنقلها إلى أطباق جديدة فيها وسط مغذي PDA (Mathur and Kongsdal,2004).

3-4-1-تحضير المعلق البوغي:

حُضر معلق بوغي من العزلات الفطرية بزرع الفطر على وسط PDA وتحضينه في الظلام لمدة 10 أيام حتى تتشكل الأبواغ، حيث وُضع 10 مل ماء مقطر معقم فوق مشيجة الفطر، وحُركت باستخدام ابرة معقمة، ثم

أُخذت قطرة من المعلق بواسطة ابرة العزل، وزرعت على وسط PDA، بعد 24 ساعة فحص الوسط تحت المكبرة لالتقاط المشيجة النامية عن بوغة واحدة، ونقلت إلى وسط PDA، وحضنت تحت نفس الشروط السابقة بغية الحصول على مستعمرة فطرية ناتجة عن بوغة واحدة(Burgess *et al*,1994) . لإكثارها والحفاظ على حيويتها وحفظها في البراد لاستخدامها لاحقاً.

3-5-تعريف أنواع الجنس *Fusarium* بالاعتماد على الصفات الزرعية والشكلية:

دُرست الخصائص الزرعية لـ 24عزلة على الوسط PDA من حيث شكل المستعمرات ولونها وقطرها، والصبغات التي تنتجها ضمن الآغار بعد 10-14 يوماً من التحضين عند درجة الحرارة 25 ±3°س في الظلام (Akbar *et al.*,2018). كما دُرِست الخصائص الشكلية للأبواغ الكونيدية الكبيرة Macrconidiaالمتشكلة على وسط اغار قطع أوراق القرنفل، وصفات الأبواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia، وكيفية توضّعها على الحوامل البوغية بعد 6- 10 أيام من التحضين على وسط اغار البطاطا والدكستروز PDA عند درجة الحرارة 25°س، بالإضافة إلى نمط الفياليداتPhialide والحوامل البوغية Conidiophores. فُحصت المزارع بمعدل كل أسبوع أو أسبوعين لمراقبة تشكل الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores، وكيفية توضعها عند العزلات المختلفة. كما فُحصت أبعاد الأبواغ باستخدام المجهر الضوئي Olympus تكبير ×400 وصورت الابواغ باستخدام كاميرا موصولة مع برنامج Image view على الحاسوب وحُددت أنواع فوزاريوم المتحصل عليها باستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Nelson *et al.,* 1983; Burgess *et al.*, 1994; Leslie and Summerell, 2006 ; Rozlianah and Sariah.,2006; Luigi Ciampi *et al.*,2009 ; Ismail *et al.*,2015 ; Zidan,2020)

الجدول 3: موقع ونوع العينات النباتية التي عزلت منها العزلات الفطرية المأخوذة من مخبر أمراض النبات في كلية الزراعة، جامعة دمشق، ومواصفات هذه العزلات (مهنا وآخرون،2019)

رقم العزلة	1	2	3	4	5	6	7	8	9
رمز العزلة	OH1-1	OH1-1-2	OH2	OH13	OH4-1	SR1	RS2-1	HR4	XR2
نوع العزلة	*Fusarium oxysporum*	*Fusarium oxysporum*	*Fusarium solani*	*Fusarium oxysporum*	*F. solani*	*F. solani*	*F. solani*	*Fusarium oxysporum*	*F. solani*
العائل	بندورة	بندورة	بندورة	بندورة	بندورة	فليفلة	فليفلة	فليفلة	فليفلة
لون وقوام سطح المستعمرة العلوي	أبيض مع دائرة بنفسجية قاتمة بالوسط	أبيض خفيف مع بنفسجي خفيف	أبيض حبيبي +بنفسجي قاتم	أبيض ناصع مع بنفسجي خفيف	أبيض حبيبي مع بنفسجي قاتم	أبيض خفيف	أبيض خفيف مع بنفسجي قاتم	أبيض ناصع قطني	أبيض ناصع حبيبي
لون أسفل الطبق	قشدي قاتم مع بنفسجي في الوسط	قشدي فاتح	قشدي فاتح	قشدي قاتم مع بنفسجي بشكل شعاعي بالوسط	أرجواني قاتم	قشدي قاتم	بنفسجي قاتم	قشدي فاتح	قشدي قاتم مائل إلى الزهري الخفيف
قطر المستعمرة	7.5	7.95	7.6	8.57	8.5	8.3	8.2	9	7.84
القطر الكبير (µm) Microconidia	8.3×3.2	7.3×3.8	9×4.7	8.3×3.2	7.3×3.6	13.3×5.7	5.6×3.5	7.9×3	16.9×7.3
القطر الصغير(µm) Microconidia	5.7×2.2	3.2×2	4.3×2	5.7×2.2	4.7×2.5	5.2×2.3	3.5×1.7	4.5×2.2	4.9×2.7
الموقع	جبلة – دوير الخطيب	جبلة – دوير الخطيب	جبلة – دوير الخطيب	بانياس – حريصون - القلوع	جبلة – دوير الخطيب	السويدا ء-الثعلة	دمشق – مشتل البيلسان	حماة – الغاب – الهزاني	ريف دمشق - الريمة

3-6-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية:

أُستخدمت شتول بندورة صنف "سمرتيترا" القابل للإصابة وغير المقاوم للذبول بعمر أسبوعين بطور فينولوجي ثلاث أوراق حقيقية سليمة من الممرضات وغير معاملة بالمبيدات الفطرية (مشتل الأرض الخضراء في اللاذقية)، زُرعت الشتول بتاريخ 8/2/2021 في أصص معقمة بقطر 20 cm تحتوي خلطة ترابية معالجة شمسياً (تورب TS2 ورمل وتربة زراعية) بنسبة 1:1:1 (حجم) كما كان هناك أصص تحوي الشتول فقط بدون أي عدوى مستخدمة كشاهد سليم غير معامل.

أُخذت قطعة من المشيجة الفطرية بقطر 1.5سم لكل عزلة من عزلات الفطر، ووضعت تحت جذور الشتول مباشرة، وبمعدل أربعة مكررات لكل معاملة (عزلة فطرية) و3 نباتات في المكرر الواحد وأعيدت العدوى بعد شهر باستخدام معلق بوغي للفطر بتركيز 10^8 بوغ/ مل بمعدل 20 مل لكل شتلة، بعد أن ضبط تركيز المعلق البوغي باستخدام شريحة عد الكريات Hemacytometer.

كما قيست درجة حرارة التربة باستخدام مقياس حرارة رقمي Digital thermometer للتأكد من توفر الظروف الملائمة لنجاح العدوى.

أُخذت القراءات بشكل دوري من طول النبات وعدد الأوراق التي بدأت بالاصفرار. وبعد ثلاثة أشهر من الزراعة تم قلع النباتات لتقدير شدة الإصابة وحساب الوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري، اذ جففت النباتات في فرن عند درجة حرارة 90 °س لمدة 24 ساعة. كما أعيد عزل الفطر وبنفس الطريقة من الشتلات المعداة والتي أظهرت أعراض إصابة لاستخدامها في التجارب اللاحقة.

قدرت إمراضية العزلات الفطرية على النباتات بقياس شدة المرض %. حيث قدرت شدة المرض بالنسبة للذبول الوعائي وفقاً لسلم خماسي (Paz-Lago D. *et al.*,2000)على شتلات البندورة كالتالي:

(1) نبات سليم

(2) بداية ظهور أعراض الذبول

(3) ذبول واصفرار الأوراق وتلون بني في الأوعية الناقلة بنسبة 50%

(4) ذبول واصفرار الأوراق وتلون بني في الأوعية الناقلة يصبح أكثر وضوحاً وبنسبة 75% وبداية موت النباتات

(5) جفاف وموت كامل النبات بسبب الذبول.

أما بالنسبة لتعفن الجذور والذبول قدرت وفقاً للمقياس التالي(Vakalounakis and Fragkiadakis, 1999) :

(1) لا توجد أعراض

(2) اصفرار خفيف للأوراق، وتعفن خفيف أو متوسط على الجذر الرئيسي والجذور الثانوية وتعفن التاج

(3) اصفرار معتدل أو شديد للأوراق مع أو بدون ذبول، التقزم، تعفن شديد على الجذر الرئيسي والجذور الثانوية، تعفن التاج حتى الأوراق الفلقية وتغير لون الأوعية الناقلة في الساق.

(4) موت النبات

وحُسبت النسبة المئوية لشدة المرض بالمعادلة رقم (1):

شدة المرض Disease Severity(%)=[مجموع (عدد النباتات المصابة في تلك الدرجة× قيمة الدرجة) / العدد الكلي للنباتات × قيمة أعلى درجة] × 100

بالإضافة لقياس نسبة الإصابة (%) على النباتات وفقاً للمعادلة رقم (2) (Haruna *et al.*,2012)

نسبة الإصابة Infection Rate(%) = عدد النباتات المصابة/عدد النباتات في التجربة ×100

ومن خلال هذا الاختبار انتخبت العزلة الأشرس، لاختبار قابلية بعض أصناف البندورة المحلية والأصول البرية المتوفرة في السوق المحلية للإصابة. واستخدمت أيضاً في تجارب التضاد مع العزلات البكتيرية.

3-7-اختبار قابلية بعض الأصناف والأصول البرية للبندورة المتوفرة محلياً للإصابة بذبول فوزاريوم

تم تحضير شتول 21 صنف بندورة هجين و8 اصول برية للبندورة في محطة الرمال الذهبية التابعة لشركة دبانه بعمر 3 أسابيع وبطور فينولوجي 4 أوراق حقيقية متوفرة للزراعة محلياً دون معاملتها بالمبيدات الفطرية وسليمة من الإصابات المرضية وهي:

أصناف وهجن البندورة: كرزي RS – مجدلينا – مندلون – دلال – رندلى – ريدغارد – SE – بستونا – روسي – بلحي شوكولا – راما – كسواني عنقودي 400 – كسواني عنقودي 402 – 258 – هدى – 175 – 388 – ليو – دومينا – قاسيون – ريا

اما الاصول البرية التابعة للنوع *Solanum lycopersicum L.* فهي: Beaufort –Estamino F1 F1– Fortamino F1 –Enpower – Multifort F1 – Embajador RZ – Defensor F1 – TD–4 F1

نقلت الشتول وزُرعت في البيت الزجاجي بتاريخ 4/11/2021، وأُجريت العدوى عليها بغمر جذور الشتول بمعلق أبواغ الفطر الممرض تركيزه 10 ^{8} بوغ/ مل بمعدل 4 مكررات لكل معاملة (عزلة / صنف) و3 نباتات في المكرر الواحد وشاهد سليم غير معدى لكل صنف، وذلك باستخدام العزلتين الأكثر شراسة (FU7 وFU6) التي تم اختيارها بناءً على اختبار الشراسة المذكور انفاً.

أُعيدت العدوى الفطرية بعد 10 أيام من تاريخ العدوى الأولى وذلك باستخدام معلق بوغي تركيزه 10 ^{8} بوغ/ مل (سقاية الشتول بمعدل 200 مل معلق بوغي/ شتلة)، وأُخذت النتائج بعد ثلاثة أشهر من تاريخ العدوى. إذ تم قياس طول منطقة تلون الساق وعدد الأوراق المصفرة لحساب شدة المرض وفق السلم المعتمد (Paz–Lago D. *et al.*,2000) كما حسبت نسبة الإصابة% (Haruna *et al.*,2012)

وتم تقييم حالة النباتات بناءً على السلم المعتمد من قبل Silme and Cagirgan،(2010) والذي يعتمد على نسبة الإصابة وهو:

1: 1–10% مقاوم R (Resistant)

2: 11–20 % معتدل المقاومة MR (Moderately Resistant)

3: 21–30% معتدل القابلية للإصابة MS (Moderately Susceptible)

4: 31 –50% قابل S (Susceptible)

5: 51–100% عالي القابلية HS (Highly Susceptible)

3-8-عزل البكتيريا من الجذور:

أ-عُزلت بكتيريا من جذور نبات البندورة السليمة، حيث قطعت الجذور ووضعت في انابيب معقمة (كل جذر في أنبوب) تحوي ماء مقطر معقم لمدة 10 دقائق للتخلص من حبيبات التربة العالقة عليها، ثم وضعت في أنبوب اختبار يحوي 4.5 مل ماء مقطر معقم ورج جيداً مدة 1 دقيقة وسط رجاج كهربائي لفصل البكتيريا العالقة على الجذور. مُدد وسط الزرع السائل (المعلق البكتيري) ثلاثة تمديدات بمعدل $1/10$،$1/10^2$، $1/10^3$

الوسط المستخدم: هو وسط الآغار المغذي Nutrient Agar (NA) حضر هذا الوسط بإذابة 28غرام من المستحضر الجاهز (شركة HI media) في 1ليتر من الماء المقطر وعُقمَت بالاتوكلاف.

من التمديد الثالث ($1/10^3$) أخذ 50ميكروليتر من كل عينة وزرع في أطباق بتري تحوي وسطاً مغذياً NAتم زرع المعلق البكتيري بوضع قطرة منه في وسط طبق بتري ونشرت على كامل سطح الوسط المغذي باستخدام ماسحة زجاجية مثلثة. زُرعت ثلاثة مكررات لكل عينة، كل مكرر عبارة عن طبق واحد. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±3 ºس. بعد مرور 48 ساعة من التحضين أخذت القراءات على كل طبق، حيث تم فرز المستعمرات البكتيرية في كل طبق بحسب شكلها ولونها وحجمها منتظمة أو غير منتظمة، محدبة أو مسطحة، ولون المستعمرة.

أعطيت كل مستعمرة رمزاً محدداً، ثم نقلت إلى طبق بتري جديد يحوي وسط مغذي NA لتنقيتها، وبعد ذلك حُفظت هذه البكتيريا بالتجميد باستخدام وسط مكون من LB Broth 70%+ غليسرول30%.

تم تحضير وسط LB بأخذ 2غ من المستحضر الجاهز في 100مل ماء مقطر، أُخذ 70مل من وسط LB وتم مزجها جيداً مع 30مل غليسرول بواسطة الرجاج الكهربائي ثم تم تعقيمها بالاتوكلاف، بعد ذلك تم صب الوسط في انابيب ابندورف معقمة 1.5مل، ثم أُخذت خزعة من كل مستعمرة بواسطة ابرة العزل ووضعت في الأنبوب. حُفظت ثلاث مكررات من كل عزلة بكتيرية في الثلاجة عند درجة حرارة −20 ْس لحين الاستخدام.

ب−عُزلت بكتيريا من محيط العقد الجذرية لنبات النفل الأرجواني *Trifolium purpureum*، تم جمع هذا النبات من منطقة جبل عرمان على ارتفاع 1550 م، السويداء، سوريا.

عُزلت البكتيريا من العقد الجذرية بفصل العقد الجذرية باستخدام شفرة، مع مراعاة قطع جزء من الجذر المتواجد عليه العقد. وبعد غسلها بماء الصنبور لعدة مرات عقمت بالكحول تركيز 70% لمدة 3 دقائق. بعدها غسلت لعدة مرات متتالية بالماء المقطر المعقم، وفي المرة الأخيرة تركت العقد داخل طبق بتري معقم مع 5مل من الماء المقطر المعقم لمدة دقيقة، وسُحقت العقدة تحت ظروف التعقيم داخل جفنة. وباستخدام ابرة التلقيح نقل جزء من المعلق، ونشر على سطح اطباق بتري تحتوي على وسط مستخلص الخميرة – مانيتول الصلب المضاف لها صبغة أحمر الكونغو CRYEMA (Congo Red Yeast manitol agar) باستخدام طريقة التخطيط Streaking. وحضنت الاطباق بعدها في الحاضنة عند درجة 25 ± 3 ْس لمدة 24 −48 ساعة، اختير من كل طبق المستعمرات البكتيرية والتي لم تأخذ الصبغة الحمراء أو تلك التي ظهرت بلون احمر باهت (صفة مميزة لبكتيريا الرايزوبيا) على أطباق بتري فيها وسط الخميرة مانيتول الصلب YEMA (Yeast Manitol Agar) كما حفظت الزرعات البكتيرية في الثلاجة في وسط LB بنسبة 70% مع غليسرين بنسبة 30% لحين استعمالها في الاختبارات اللاحقة. (Deshwal and Chaubey,2014)

3−9−عزل البكتيريا من التربة المحيطة بالجذور:

وضع 5غرام من التربة المحيطة بالجذور من كل عينة في أنبوب اختبار يحوي 100مل ماء مقطر معقم. ورُج الانبوب لمدة 5 دقائق على رجاج كهربائي. مددت كل عينة 6 تمديدات (1/10، $1/10^2$ ، $1/10^3$

$1/10^4$، $1/10^5$، $1/10^6$) حيث يضاف كل مرة 1 مل من المعلق إلى انبوب اختبار، يحتوي 9 مل ماء مقطر معقم ويرج جيداً.

نُشر 50 ميكروليتر من التمديد السادس ($1/10^6$) على طبق بتري يحوي وسط الآغار المغذي Nutrient Agar (NA) على كامل سطح الطبق، وكررت العملية لكل عينة ثلاث مرات.

حُضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 ± 3 ْس مدة 48 ساعة. أخذت القراءات على كل طبق، حيث تم انتخاب المستعمرات البكتيرية في كل طبق بحسب شكلها ولونها وحجمها منتظمة أو غير منتظمة، محدبة أو مسطحة، ولون المستعمرة. أعطيت كل مستعمرة رمزاً محدداً، ثم نقلت كل مستعمرة إلى طبق بتري يحوي وسط مغذي NA لتنقيتها وبعد ذلك تم حفظ هذه البكتيريا في نفس وسط الحفظ الذي ذكر سابقاً LB Broth+ غليسرول 70:30% بمعدل ثلاث مكررات من كل عزلة بكتيرية في الثلاجة على درجة حرارة −20 ْس لحين الاستخدام.

3−10−اختبار قدرة البكتيريا المعزولة على تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة مخبرياً

بتاريخ 2021/6/27 أُختبرت القدرة التضادية لـ 48 عزلة بكتيرية، والتي عزلت من الجذور والتربة المحيطة بها لنبات البندورة بالإضافة للعزلة التي أُخذت من جذور النفل الأرجواني.

3−10−1−اختبار القدرة التضادية بطريقة التضاد بالقطاعات:

تم تنشيط العزلات البكتيرية المحفوظة بالتجميد، بزرعها في وسط المرق المغذي السائل Nutrient broth NB، بمعدل 100 ميكروليتر معلق بكتيري في 20 مل وسط NB. كما تم تجديد العزلتين الفطريتين الأعلى شراسة وذلك بعزلها من النباتات التي طبقت عليها العدوى. بعد ذلك وُضع في كل طبق بتري (قطر 9 سم) يحوي الوسط المختلط PDA+NA بنسبة 1:1 حجماً أربع عزلات بكتيرية، وزعت على محيط الطبق بشكل خط مستقيم على بعد 1 سم من حافة الطبق، ووضع في مركز الطبق قرص بقطر 1 سم من المشيجة الفطرية النامية.

واستخدمت 3 مكررات لكل عزلة بكتيرية. حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ±3 ْس وبعد 96 ساعة من التحضين قيست المسافة الفاصلة بين نهاية النمو الفطري والنهاية المقابلة من النمو البكتيري باستخدام مسطرة ميليمتريه (Ajigbola *et al*,2013). وحُسب متوسط المكررات الثلاث لكل عزلة وسجلت النتائج.

3-10-2-اختبار القدرة التضادية بطريقة التضاد بالحفرة Well-Plate Assay:

أُختبرت العزلات البكتيرية التي أعطت تأثيراً مضاداً للفطر الممرض بطريقة أخرى وهي طريقة التضاد بالحفرة Well-Plate Assay (Kerr *et al*,1999). وذلك باستخدام نفس الوسط المغذي PDA+NA الذي عُقم وصب في اطباق بتري (قطر 9 سم). حيث حُضرت معلقات بوغية للفطر الممرض بتركيز 10^8 بوغة/مل وكل عزلة فطرية على حدا. كما تم تحضير معلقات للبكتيريا التي أبدت صفة التضاد للفطر الممرض، وتم ضبط تراكيز المعلقات البكتيرية على المطياف الضوئي Spectrophotometer بقياس الامتصاصية عند طول موجة 600 nm عند التركيز 0.5. ثم تم حساب عدد الوحدات المشكلة لمستعمرة CFU (Colony forming unit) بطريقة أنابيب التخفيف للعزلات البكتيرية كافة، وتم ضبطه عند 10^{10} CFU/مل لكافة العزلات، ثم تم ترشيحها بمرشحات بكتيرية للحصول على الراشح.

زُرع 100 ميكروليتر من المعلق البوغي للفطر الممرض على كامل الوسط المغذي، ثم صُنعت حفرة بقطر 0.7 سم وسط الطبق وُضع 50 ميكروليترمن الراشح البكتيري في هذه الحفرة الوسطية، بمعدل 3 مكررات لكل عزلة بكتيرية، ويترك شاهد عبارة عن مستعمرات فطرية نقية لقياس قطرها.

حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 3 ° س لمدة 96 ساعة. ثم قيس متوسط نصفي قطرين متعامدين للمستعمرة الفطرية المعاملة باستخدام مسطرة ميليمتريه.

وتم حساب نسبة تثبيط النمو الفطري من المعادلة رقم (3):

نسبة التثبيط Inhibition (%) = [(قطر مستعمرة الفطر الشاهد – قطر مستعمرة الفطر المعاملة) / قطر مستعمرة الفطر الشاهد] × 100

حيث أن: قطر مستعمرة الفطر المعاملة بطريقة القطاعات = قطر مستعمرة الفطر الشاهد – قطر منع النمو بالراشح البكتيري

سُجلت النتائج وأُنتخبت أفضل العزلات البكتيرية، من حيث قدرتها على تثبيط نمو الفطر في الزجاج، وجرى تعريفها بيوكيميائياً ليتم اختبار قدرتها في تثبيط الإصابة على صنف البندورة القابل.

3-11-تعريف البكتيريا المعزولة المثبطة لنمو مسبب ذبول فوزاريوم

تم تعريف البكتيريا وتحديد هويتها على مستوى الجنس والنوع باستخدام عدة اختبارات بيوكيميائية وهي:

3-11-1-اختبار صبغة غرام **Gram stain test**: (Colwell and Grigrova ,1987)

الكواشف: الكريستال البنفسجي ومحلول الليغول ومحلول السفرانين

تعلق البكتيريا في قطرة ماء مقطر موضوعة على شريحة، ويثبت المعلق بالتسخين على اللهب، يصبغ المحضر بالكريستال البنفسجي لمدة 1 دقيقة، ثم يغسل المحضر بمحلول الليغول، ثم بالماء، ثم بالكحول 95%، ثم يغسل المحضر بالماء المقطر، ثم يصبغ بالسفرانين لمدة 3-2 دقيقة، ويغسل بالماء، ويفحص بالعدسة الزيتية الغاطسة. والهدف من هذا الاختبار تحديد شكل الخلية البكتيرية، ومعرفة ما إذا كانت موجبة أم سالبة غرام، حيث أن البكتيريا موجبة غرام تظهر بلون بنفسجي داكن، والبكتيريا سالبة غرام تظهر بلون وردي أو احمر.

3-11-2-اختبار غرام بطريقة **GRAM reaction RYV**: (Suslow *et al* 1982)

يُحضر محلول من ماءات البوتاسيوم KOH 3%، نضع قطرة من هذا المحلول على شريحة مجهرية ويحُضر منها معلق بكتيري بواسطة ابرة التلقيح. إذا شوهدت اثناء تحضير المعلق خيوط لزجة على ابرة التلقيح تكون البكتيريا سالبة غرام، اما إذا انفصلت الكتلة البكتيرية بسهولة من ابرة التلقيح ولم تشكل خيوطاً لزجة فهذا يعني انها موجبة غرام. والهدف من هذا الاختبار معرفة ما إذا كانت موجبة أم سالبة غرام

3-11-3-اختبار اكسيداز **Oxidase Test** : (Winn *et al.*2006)

هذا الاختبار مفيد بصورة خاصة لتمييز جنس *Pseudomonas* عن غيره من العصيات سالبة الغرام. يوضع 1% من كاشف Kovacs Oxidase Reagent (tetramethyl–*p*–phenylene–diamine dihydrochloride) في الماء على ورقة ترشيح، ثم تنقل المستعمرة بحلقة التلقيح إلى قرص الكاشف وتمزج جيدا. يدل ظهور اللون البنفسجي الذي يظهر بعد 10 ثواني على ان الاختبار موجب.

3-11-4-اختبار قدرة البكتيريا على تشكيل الجراثيم الداخلية (التبوغ) Endospore formation:

(Y.P.Vries,2011)

يحضر معلق بكتيري كثيف من مستعمرة بكتيرية هرمة عمرها عدة أيام، يوضع المعلق في أنبوب. يغمس الانبوب في حمام مائي درجة حرارته 80 ° س لمدة 15 دقيقة. تخرج الانابيب وتفتح في ظروف التعقيم ويوزع منها بضع قطرات على وسط مغذي في طبق بتري، ثم تحضن على درجة ملائمة لمدة 24-48 ساعة. إذا نمت البكتيريا بعد التحضين وهذا يدل على تكوين الابواغ.

3-11-5-انتاج البكتيريا للصبغات الوميضية على وسط King B Bacterial fluorescence production Test: (King *et al*,1954)

تنتج بعض أنواع بكتيريا *Pseudomonas* صبغات وميضية إذا نمت على وسط King B الذي يحوي على كميات قليلة من الحديد، وهي تبدو خضراء وميضية إذا عرضت للأشعة فوق البنفسجية، تزرع البكتيريا بشكل خط طولي على وسط King B، بعد 24 ساعة اذا ظهرت بلون أخضر وميضي تحت الاشعة فوق البنفسجية يدل على انها أحد أنواع بكتيريا *Pseudomonas* الوميضية.

3-11-6-اختبار فرط الحساسية على التبغ Hypersensitivity Test on Tobacco leaf

(Klement and Goodman, 1967)

يجرى هذا الاختبار للتأكد من أن البكتيريا المعزولة ممرضة للنبات. ويتم بحقن معلق من البكتيريا المراد اختبارها (10 ^{9} خلية بكتيرية / مل) بواسطة محقن (سيرينغ)، يتم الحقن في العصب الأساسي لورقة نبات التبغ أو

أحد الأعصاب الثانوية. يسمح هذا الحقن بارتشاح المعلق البكتيري ضمن نسيج الورقة كما يجب أن تكون مساحة الجزء المحقون لا تقل عن 1–2 سم^2. بعد 24 ساعة من الحقن، اذا لوحظ ذبول وموت النسيج النباتي الذي لامس البكتيريا فالاختبار إيجابي.

3-11-7-اختبار التنفس Oxidation –Fermentation Test: (Murray *et al* 2007)

الهدف من هذا الاختبار تحديد طبيعة تنفس البكتيريا، حيث يضاف إلى الوسط المغذي الخاص بهذا الاختبار ازرق بروم الثيمول كدليل على درجة pH الوسط، كما يضاف للوسط المغذي سكر الغلوكوز كمصدر للكربون والطاقة، يضاف 3 غ/ل آغار لتشكيل وسط نصف صلب ويوزع الوسط في انابيب اختبار عادية ويُعقم، يستخدم انبوبان لكل عزلة بكتيرية، حيث يلقح كلاهما بالبكتيريا ولكن يوضع احداهما بشكل لا هوائي بإضافة زيت البارافين المعقم على سطح الوسط، ويتم التحضين على درجة حرارة ملائمة لمدة 24–48 ساعة. إذا تحول كلا الانبوبين للون الأصفر: البكتيريا هوائية لا هوائية اختيارية، تحول الانبوب الذي لا يحوي زيت البارافين إلى اللون الأصفر: البكتيريا هوائية، لا تغير في الانبوبين: البكتيريا قلوية غير نشطة، تلون الانبوب الذي لا يحوي الزيت باللون الأزرق: البكتيريا قلوية.

3-11-8-اختبار كاتلاز Catalase Test: (Facklam and Elliott,1995)

هو اختبار يكشف عن وجود انزيم ال Catalase ويقوم هذا الانزيم بتكسير بيروكسيد الهيدروجين H2O2 إلى ماء واكسجين، يتم انتاج هذا الانزيم بواسطة البكتيريا الهوائية او اللاهوائية الاختيارية اما البكتيريا اللاهوائية; لا تملك القدرة على انتاج هذا الانزيم. تضاف كمية صغيرة من البكتيريا المعزولة في محلول بيروكسيد الهيدروجين (3%) على شريحة زجاجية. يدل تشكيل الفقاعات خلال 10 ثواني على ان الاختبار موجب.

3-11-9-اختبار تحلل البكتين أو تعفن شرائح البطاطا Potato slice rot Test: (Lelliot *et al*., 1966)

يفيد هذا الاختبار في تحديد الأنواع البكتيرية القادرة على انتاج الانزيمات المحللة للبكتين. نختار درنات بطاطا سليمة وتغسل جيداً وتجفف، ثم تغمس بالكحول 90% لمدة 10 ثواني، ونمررها بسرعة على اللهب. تُقطع كل درنة إلى قطعتين باستخدام سكين معقمة، ثم تُصنع حفرة بقطر وعمق 5 مم في مركز سطح الدرنة المقطوع، نضع انصاف الدرنات المحضرة سابقاً في وعاء معقم، وضع في قعره ورق ترشيح معقم ومبلل بالماء. يحضر معلق بكتيري من السلالة المراد اختبارها تركيزه 10^{8} خلية بكتيرية /مل، وتملأ الحفر المصنوعة في الدرنات بالمعلقات البكتيرية. يقفل بعدها الوعاء الموضوع فيه الدرنات بالغطاء المناسب للمحافظة على رطوبة نسبية عالية، وتحضن الدرنات عند درجة حرارة 25 ْس لمدة 48 ساعة. في حال حصل تحلل وطراوة في أنسجة البطاطا المحيطة بالحفرة وهذا دليل على ان البكتيريا انتجت الانزيم الذي يحلل البكتين: الاختبار إيجابي.

3-11-10-اختبار تحلل الجيلاتين **Gelatin hydrolysis**: (Dela cruz,2012)

الهدف من هذا الاختبار تحديد نوع البكتيريا القادرة على انتاج انزيم الجيلاتيناز المحلل للجيلاتين. يُحضر وسط مغذي حاوي على الجيلاتين، ويوزع الوسط في انابيب اختبار بمعدل 5 مل/ أنبوب. تزرع الانابيب ببكتيريا حديثة النمو، بوخز الوسط من منتصفه بإبرة الزرع، وتحضن الانابيب عند درجة حرارة 25 ْس لمدة 15 يوماً. ثم توضع الأنابيب في البراد عند درجة حرارة 6 ْس لمدة 10 دقائق، لكي يأخذ الجيلاتين الشكل الصلب وبعدها نخرج الانابيب من البراد. إذا كان الجيلاتين في حالة سائلة اختبار إيجابي، الجيلاتين في حالة صلبة اختبار سلبي.

3-11-11-اختبار تحلل النشاء **Starch hydrolysis**: (Tille, 2014)

يفيد هذا الاختبار في معرفة ما إذا كانت البكتيريا قادرة على انتاج انزيم الأميلاز المحلل للنشاء. يُحضر وسط مغذي حاوي على النشاء القابل للانحلال. يتم تعقيم الوسط ويصب في اطباق بتري ثم تزرع البكتيريا بشكل لطع او خطوط، ثم يتم التحضين على حرارة ملائمة. وبعد التحضين والحصول على نمو جيد للبكتيريا يضاف إلى الطبق محلول اليود اليودي (محلول الليغول) الذي يلون النشاء باللون البني ويترك هالة غير ملونة حول البكتيريا التي تحلل النشاء.

3-11-12-اختبار تحمل البكتيريا لتركيز NaCl 2% Growth on medium containing 2% Sodium chloride: (Barra *et al*., 2016)

يستخدم لهذا الاختبار وسط Yeast salts broth يوزع المحلول بعد تمام ذوبان المواد في أنابيب اختبار بمعدل 5 ميليلترات / الأنبوب. ثم تعقم عند درجة حرارة 120 ْس لمدة 20 دقيقة. تزرع الأنابيب بإضافة قطرتين من معلق بكتيري ثم تحضن الأنابيب على درجة 25ْس لمدة أسبوع. يلاحظ تعكر الوسط في حال نمو البكتيريا.

3-11-13-اختبار أحمر الميتيل Mythel red Test (MR): (Crown and Gen,1998)

يكشف هذا الاختبار عن انتاج حمض كاف اثناء تخمير الغلوكوز مع الحفاظ على رقم هيدروجيني pH= 4.5. ويتضح ذلك من خلال تغير لون مشعر احمر الميثيل في نهاية فترة التحضين، فبعد 3 أيام من التحضين مع الرج يسحب 1 مل من الانبوب، ويوضع في أنبوب ابندورف ويضاف له 3 – 5 نقاط من مشعر احمر الميثيل. إذا اعطى حلقة حمراء فالاختبار إيجابي، وإذا اعطى حلقة صفراء يكون الاختبار سلبي، اما إذا اعطى لون برتقالي يحضن ل 5 أيام ثم يفحص مرة أخرى.

3-11-14-اختبار اليورياز Urease Test: (Bailey and Scott.1974)

يفيد هذا الاختبار في تحديد البكتيريا القادرة على انتاج انزيم اليورياز المحلل لليوريا.

تم اجراء الاختبار باستخدام وسط Christensen's urea، ويوزع الوسط في انابيب اختبار 4-5 مل في الانبوب. وتلقح الانابيب بالبكتيريا وتحضن على درجة حرارة 37 ْس لمدة 48 ساعة، يؤدي انتاج اليورياز إلى تغير لون الوسط من الأصفر إلى الوردي او الأحمر.

3-11-15-حركة البكتيرية Motility of bacteria: (Shields and Cathcart,2011)

يفيد هذا الاختبار لمعرفة ما إذا كانت البكتيريا متحركة ام لا. تزرع خزعة من مستعمرة حديثة بعمر 18-24 ساعة في الوسط المغذي الخاص بهذا الاختبار، يوزع الوسط في انابيب 5 مل ويعقم بالاتوكلاف، ثم تزرع

الخزعة حتى منتصف الانبوب بشكل عامودي، وتحضن بدرجة حرارة مناسبة مدة 24 ساعة، إذا انتشرت البكتيرية بكامل الوسط تعتبر متحركة وإذا نمت فقط في خط الزرع تعتبر غير متحركة.

3-11-16-اختبار حلمهة الدم Hemolytic test: (Ruoff *et al*.,1999)

لمعرفة قدرة البكتيريا على حلمهة الدم من خلال زراعتها على وسط blood agar base (infusion agar)، يغلى الوسط لدقيقة، ثم يعقم بالاتوكلاف ويبرد بعدها إلى درجة حرارة 45-50°س، ويضاف له 5 % دم معقم منزوع الفبرين ويخلط جيداً، وتحضن على درجة حرارة 37 °س /24 ساعة فإذا تشكلت هالات حول المستعمرات فإن الاختبار إيجابي.

3-11-17-اختبار Voges-Proscaver (VP): (Barry *et al*.,1967)

يعد هذا الاختبار لكشف قدرة البكتيريا على انتاج acetyl-methyl carbinol من تخمير الغلوكوز، تم وضع 10 مل الوسط المغذي في انابيب، وعقم في الاوتوكلاف. وقبل زرع البكتيريا تم تركه في وسط حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة، تم زرع بكتيريا بعمر 18-24 ساعة، وحضنت لـ 24 ساعة. ثم أُخذ 2 مل من الوسط، ووضع في ابندورف معقم، واضيف له 6 قطرات من كاشف Alpha-naphtol 5% ونخلطها جيداً، ثم يضاف له قطرتين من كاشف هيدروكسيد البوتاسيوم وتترك لمدة 30 دقيقة، ظهور حلقة باللون الوردي او الأحمر دليل اختبار إيجابي.

3-11-18-اختبار صبغ بروتين الكريستالات staining of the crystal protein test:

(Sharif *et al*.,1988)

تم تحضير محضر مجهري وغمر لمدة ثلاث دقائق بصبغة Coomassie brilliant blue، وتم غسل المحضر بالماء المقطر وفحص تحت المجهر الضوئي باستخدام العدسة الغاطسة، عند رؤية كريستالات لها شكل الالماسة هذا دليل ان نوع البكتيريا *Bacillus thuringiensis*.

وأخيراً بمقارنة نتائج الاختبارات البيوكيميائية السابقة للعزلات البكتيرية المعزولة، مع دليل تصنيف البكتيريا BERGEY´S MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY تم تعريف العزلات البكتيرية.

3-12-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة على تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة في الأصص

تم تحضير معلق بوغي لعزلات الفطر المدروسة *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* العزلة FU7 و*Fusarium solani* العزلة FU6 بتركيز 10^8 بوغ/ مل.

كما تم تحضير معلق بكتيري من العزلات البكتيرية المنتخبة (A12, B22, C33, F63, I91, J02, K11, RIZN) بتركيز 10^{10} CFU/ml لكل عزلة على حدا.

حيث اختبرت فعاليتها في تثبيط المرض على صنف البندورة القابل للإصابة "سمرتيترا"، وذلك من خلال غمس جذور شتول البندورة بعمر أسبوعين بالمعلق البكتيري ثم زراعتها في الأصص الحاوية على الخلطة الترابية المذكورة سابقا والمعقمة بالاتوكلاف بتاريخ 2022/4/13. وكررت معاملة الشتول بالعزلات البكتيرية بعد أسبوعين وذلك بمعاملة التربة بالمعلق البكتيري (2 مل لكل شتلة)، وبعد 48 ساعة من زراعة الشتول تمت معاملتها بالمعلق البوغي لأبواغ الفطر وكررت العدوى بالفطر الممرض بعد 10 أيام مع تجريح الجذور.

زرعت التجربة بـ 4 مكررات (أصص) بمعدل 3 نباتات في المكرر الواحد تبعا للتصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD)

ضمت التجربة المعاملات التالية:

1. أصص فيها شتول معداة بالمسبب المرضي فقط FU6 و FU7(شاهد إيجابي).
2. أصص فيها شتول سليمة مزروعة في تربة معقمة كشاهد سليم غير معدى.
3. أصص فيها شتول معاملة بالعزلات البكتيرية المنتخبة ومعداة بالمسبب المرضي.

4. أصص فيها شتول معداة بالمسبب المرضي ومعاملة بالمبيد الكيميائي بلتانول Beltanol (المادة الفعالة 8- Hydroxiquinoleine Sulphate50%) حيث كانت الجرعة الأولى بعد نقل الشتول بمدة 5-15 يوم مع مياه الري اما الجرعة الثانية فبعد 21 يوم من الجرعة الأولى بمعدل 0.4 مل للشتلة وهذا بناءً على التركيز الموصى به من قبل الشركة الصانعة.

5. أصص فيها شتول معاملة بالمبيد الحيوي نوفوتريت NOVOTREAT (البكتيريا *Bacillus amyloliquefaciens* FD777 انتاج شركة atomes الكندية) كانت الجرعة الأولى بعد نقل الشتول مباشرة بمعدل 10 مل مبيد/لتر ماء (200 مل للشتلة الواحدة) وكررت المعاملة مرتين بفاصل زمني أسبوعين وهذه هي الجرعة الموصى بها من قبل الشركة المنتجة ومعداة بالمسبب المرضي.

6. أصص فيها شتول معاملة بالفطر *Trichoderma harzianum* بتركيز 1×10^{7} بوغة /مل (مبيد بيو WP TH إنتاج وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سورية) كانت الجرعة الأولى بعد نقل الشتول مباشرة فاستخدمت نثراً على التربة قبل الري بمعدل 1 كغ/ 1متر مكعب تربة (2غ للشتلة) وتم تكرار المعاملة بعد 20 يوم من المعاملة الأولى ومعداة بالمسبب المرضي.

7. أصص فيها شتول معاملة بالميكوريزا الحويصلية الشجرية VAM *Vesicular-arbuscular mycorrhiza* بتركيز 84 بوغ / 100غ لقاح تم وضعه بمعدل 10 غ لقاح في حفرة زرع الشتلة، قبل نقلها مباشرة وكررت المعاملة بعد أسبوعين من المعاملة الأولى بمعدل 1 مل معلق بوغي/لتر ماء (200 مل للشتلة الواحدة) ومعداة بالمسبب المرضي.

أُخذت القراءات بشكل دوري وبعد 3 أشهر من الزراعة تم قلع النباتات ودرست المؤشرات التالية:

1. شدة المرض وفق السلم المعتمد ونسبة الإصابة

2. الوزن الجاف للمجموع الخضري وأطوال النباتات

3. الوزن الجاف للمجموع الجذري

ولأن كمية اللقاح الميكوريزي كانت غير كافية تم إكثار الميكوريزا حسب طريقة (karthikeyan and Sivasakthivelan,2007) حيث لقحت بذور الذرة الصفراء *zea mays* المعقمة سطحياً، بالسماد الحيويMyco-Rise انتاج شركة BioTac الهندية، وكان المستحضر على شكل ابواغ وهيفات الفطر VAM *Vesicular* arbuscular *mycorrhiza* بتركيز 100 مكونات التكاثر الحية الكلية / مل بشكل معلق مائي (Aqueous suspension) AS تم نقع البذور بالمستحضر لمدة ربع ساعة ثم نقلت إلى اصص بقطر 50 سم تحوي خلطة ترابية معقمة شمسياً (تورب: رمل: تربة زراعية 1: 1: 1) بمعدل 6 مكررات (أصص) و6 نباتات في المكرر الواحد بعد 45 يوم من الزراعة وعندما وصل النبات إلى طور فينولوجي 4 أوراق حقيقية تم فحص الجذور وحساب النسبة المئوية لاستعمار الجذور % Percentage Root Colonization (PRC)

تم اختيار 12 نبات ذرة بشكل عشوائي من اصل 36 نبات واختير من كل نبات 5 جذور بطول 10 سم قسمت إلى قطع بطول 1 سم (50 قطعة من كل نبات) وضعت جذور كل مكرر في أنبوب زجاجي منفرد ، تم غسل الجذور جيداً تحت المياه الجارية ، اضيفت للأنابيب KOH 10% بشكل يغمر القطع الجذرية ، تم سد الانابيب بورق الالمنيوم وتم تسخينها في حمام مائي 90ْس لمدة ساعة ثم اخذت الجذور ووضعت في حمض كلور الماء HCL 2% لمدة 3-5 دقائق ، يفرغ الحمض مع عدم الغسيل بالماء لان الصبغة تحتاج لوسط حامضي وغمرت الجذور بصبغة ازرق تريبان Trypane blue وسخنت في حمام مائي 90ْس لمدة 15 دقيقة او تترك لمدة 24 ساعة بدون تسخين ، وضعت القطع الجذرية المصبوغة على شريحة زجاجية وغطيت بساترة وفحصت تحت المجهر الضوئي (×400) لحساب النسبة المئوية لاستعمار الجذور %PRC

وحسبت النسبة المئوية لاستعمار الجذور وفق المعادلة رقم (4) (Phillips and Hayman, 1970)

(%) PRC = عدد القطع الجذرية المستعمرة / العدد الكلي للقطع الجذرية المدروسة × 100

بعد التأكد من وجود الفطر في الجذور تم ترك نباتات الذرة حتى النضج مع إيقاف الري لمدة أسبوعين لتحريض فطر الميكوريزا الداخلية على انتاج ونثر الابواغ في التربة المحيطة بالجذور وبعد جفاف نبات الذرة تم

قطع المجموع الخضري والاحتفاظ بالمجموع الجذري مع التربة المحيطة به كلقاح ميكوريزي، حيث تم تقطيع الجذور وخلطها مع التربة وتعبئتها ضمن أكياس بلاستيكية وحفظت بدرجة حرارة 4 ْس لحين الاستخدام علماً انه يمكن حفظها لمدة عام على هذه الحرارة (khrieba *et al*,2016)

كما تم اخذ 6 عينات من اللقاح الميكوريزي المتمثل بالمجموع الجذري لنبات الذرة والتربة المحيطة به، بحيث تحوي كل عينة 100 غ واستخرجت الابواغ بطريقة المناخل الرطبة والتثفيل بالسكروز (khrieba,2013 ;Quilambo,2003) تم حساب متوسط عدد الابواغ تحت المكبرة (Optic Ivymen System) وفُحصت الابواغ وتم قياس ابعادها تحت المجهر الضوئي(تكبير×600) وتم تصنيف الفطر بناءً على شكل البوغة، لونها، أبعادها، عدد الطبقات المكونة للجدار، وجود أو عدم وجود الهيفات وشكلها (Blaskowski,2003)

3-13-التحليل الاحصائي

تم تحديد معنوية البيانات المدروسة وجرى تحليلها إحصائياً بطريقة تحليل التباين ANOVA، باستخدام برنامج GenStat الإصدار 12. وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (Least Significant LSD Difference) على مستوى معنوية 5% للتجارب النصف حقلية و1% للتجارب المخبرية، واختبار دنكن متعدد الحدود DMRT (Duncan's Multiple Range Test). وحُسب معامل الارتباط بيرسون Pearson Correlation (r) بين التجربة المخبرية والتجربة النصف حقلية.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4-1-الفحص الظاهري للعينات المصابة بالذبول

أظهرت النتائج انتشار مرض ذبول فوزاريوم في بعض البيوت البلاستيكية في الساحل السوري، وتمّ أثناء الجولات الحقلية تسجيل أعراض الإصابة بهذا المرض، حيث ظهرت بشكل موت عام للنبات، مع إنتاجية منخفضة وذبول للأوراق وتقزم النبات، وفي بعض الأحيان على شكل بؤر متفرقة في الحقل وخاصة النباتات الفتية. كما انقسمت الأعراض الى فئتين.

الفئة الاولى كانت على شكل اصفرار الأوراق، بدءاً من الأوراق السفلية نحو الأعلى، وغالباً ما اقتصر على جانب واحد من النبات أو أصاب غصن واحد وبعد ذلك تساقطت الاوراق. يتقدم الممرض في الساق أيضاً مما يؤدي إلى ذبول الساق وتحلله من الداخل مع بقاء الساق اخضر وصلب من الخارج. يحدث هذا الممرض أيضاً تلون الأوعية الناقلة باللون البني المحمر، الذي تمت مشاهدته بشكل خطوط عندما أجريت مقاطع طولية في نسيج الساق. على سطح الساق المصابة شوهدت نموات فطرية بلون وردي او أبيض او برتقالي وخاصة في الجو الرطب.

أما الفئة الثانية، شوهدت الإصابة على الجذور، بشكل تعفن في الجذور الرئيسية والثانوية يمتد الى منطقة التاج وتحول الجذور للون البني المسود. وعندما أجري مقطع عرضي بالقرب من قاعدة ساق النبات المصاب لوحظ وجود حلقة بنية اللون في مستوى الأوعية الناقلة واختلف ظهور هذه التلونات الوعائية في الأجزاء العلوية من النبات حسب شدة الإصابة.

4-2-عزل مسبب ذبول البندورة

تم الحصول على 15 عزلة فطرية من عينات بندورة مصابة في البيوت البلاستيكية في الساحل السوري. منها 11 عزلة تنتمي للنوع *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*، عُزلت بنسبة 72.7% من ساق النبات و27.2% من منطقة العنق الجذري. وأربع عزلات تنتمي للنوع *Fusarium solani*، عُزلت بنسبة 25% من منطقة العنق الجذري و75 % من الجذور. كما تم استخدام 9 عزلات من الفطر المسبب لذبول البندورة

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* و*Fusarium solani*، من مخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات جامعة دمشق، كانت محفوظة بالتجميد داخل أنابيب ابندورف على شكل مشيجة مع ماء مقطر معقم (مهنا وآخرون، 2019). الجدول(3).

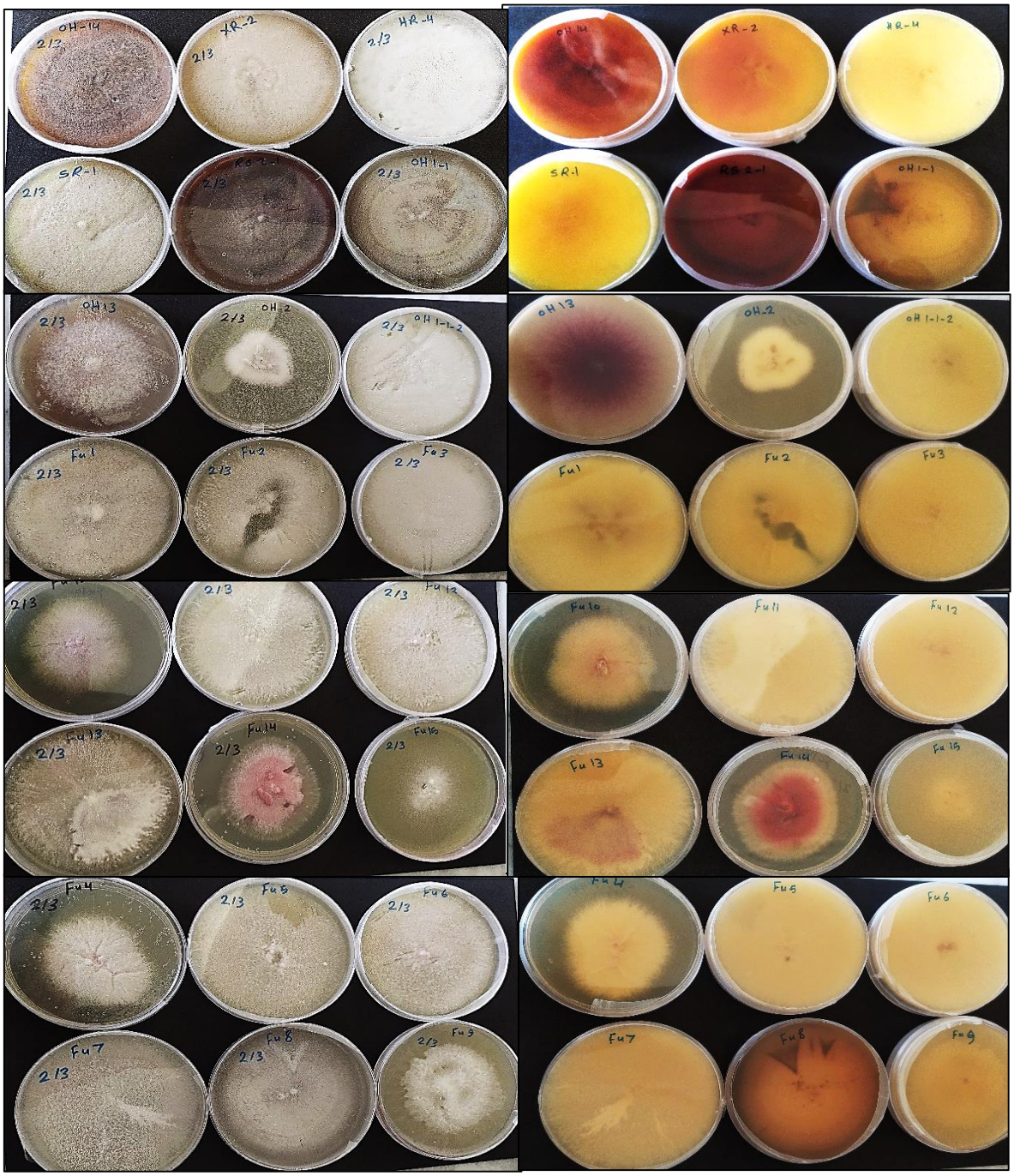
4-3-تعريف أنواع الجنس *Fusarium* بالاعتماد على الصفات الزرعية والشكلية:

تم توصيف 4 عزلات فطرية تنتمي للنوع *F. solani* تم عزلها من نباتات بندورة مصابة جمعت من الساحل السوري وهي FU3،FU6 ،FU12 ،FU15 إضافة لـ 5 عزلات معرفة سابقاً ومحفوظة في مخبر وقاية النبات (مهنا وآخرون، 2019) وهي RS2-1،XR2 ،SR1 ،OH4-1 ،OH2 . بلغ قطر المستعمرات الفطرية بين 3.5 و9 سم عند درجة حرارة 25±3 °م بعد 10 أيام من الزرع على وسط PDA، كما كانت حبيبية الشكل وتدرج لون المستعمرات من الأبيض إلى القشدي المائل للبني الذي تم ملاحظته أسفل الطبق، الجدول (4) والشكل(1)

الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia وفيرة وعريضة رقيقة الجدران والخلية القمية والقاعدية غير مدببة وانما مدورة، مستقيمة ومكونة من خليتن او أكثر اما الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia فوجدت باعداد كبيرة وحيدة الخلية بيضاوية او مستديرة الشكل وتشكلت على رأس الحوامل الكونيدية الطويلة Conidiophores وحيدة الفياليد Monophialides وسجلت أبعاد الابواغ الكونيدية في الجدول (5) اما الابواغ الكلاميدية Chlamydospores كانت كروية او بيضاوية سميكة الجدران مفردة أو مزدوجة او على شكل سلاسل قصيرة وتشكلت على المستعمرات المعمرة الشكل (2)

كما تم توصيف 11 عزلة فطرية تابعة للنوع *F. oxysporum* أُخذت من نباتات بندورة مصابة جمعت من الساحل السوري وهي FU1 , FU2 , FU4 , FU5 , FU7 , FU8 , FU9, FU10, FU11 , FU13 , FU14 , إضافة لـ 4 عزلات معرفة سابقاً ومحفوظة في قسم وقاية النبات (مهنا وآخرون، 2019) وهي OH1- 1 , OH1-1-2 , OH13 , HR4. بلغ قطر المستعمرات بين 5.4 و9 سم عند درجة حرارة 25±3 °س بعد

10 أيام من الزرع على وسط PDA، وتدرج لون المستعمرات من أبيض مع صبغات بنفسجية فاتحة او بنفسجية قاتمة إلى ارجوانية والذي تم ملاحظته أسفل الطبق (الجدول 4، الشكل 1)



A **B**

الشكل (1) شكل ولون المستعمرات الفطرية لكلا النوعين *F. oxysporum* و *F. solani* حيث ان

A: السطح العلوي للأطباق، B: السطح السفلي للأطباق

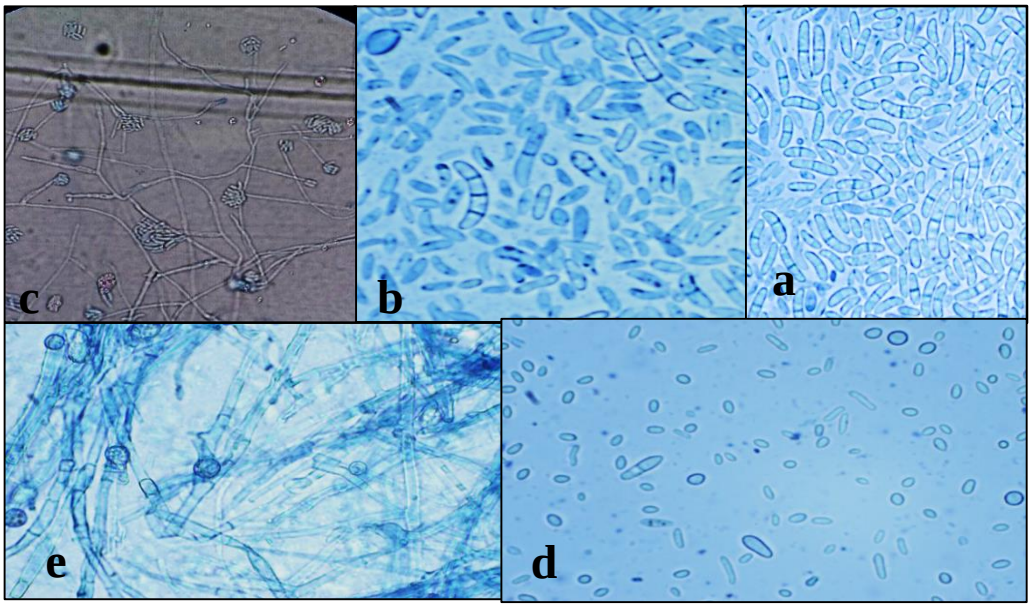
الجدول (4) أنماط وألوان وأقطار المستعمرات الفطرية وحيدة البوغ

رقم العزلة	رمز العزلة	مكان العزل	لون وقوام سطح المستعمرة العلوي	لون أسفل الطبق	قطر المستعمرة وحيدة البوغ بعد 10 أيام (سم)
1	FU1	ساق	أبيض مع بنفسجي خفيف	قشدي قاتم مع زهري بالوسط	9
2	FU2	عنق جذري	أبيض خفيف	قشدي قاتم	8.77
3	FU3	جذور	أبيض ناصع قطني	قشدي فاتح	8.63
4	FU4	عنق جذري	أبيض ناصع مع زهري فاتح	قشدي فاتح شعاعي المظهر	5
5	FU5	ساق	أبيض خفيف	قشدي فاتح مع أرجواني في الوسط	8.77
6	FU6	جذور	أبيض خفيف مع أبيض ناصع بشكل شعاعي	قشدي فاتح	9
7	FU7	ساق	أبيض مع زهري خفيف في الوسط	قشدي فاتح مع أرجواني في الوسط	9
8	FU8	عنق جذري	أبيض مع بنفسجي قاتم بشكل حلقات	قشدي قاتم مائل للبني	8.42
9	FU9	ساق	أبيض ناصع بشكل قطني	قشدي قاتم	6.7
10	FU10	ساق	أبيض مع زهري خفيف في الوسط	قشدي فاتح مع أرجواني في الوسط	6.35
11	FU11	ساق	أبيض خفيف شعاعي	قشدي فاتح	8
12	FU12	عنق جذري	أبيض حبيبي	قشدي فاتح مع زهري في الوسط	9
13	FU13	ساق	أبيض ناصع مع بنفسجي بشكل حلقة	قشدي قاتم مع أرجواني قاتم	8.23

14	FU14	ساق	زهري مائل للأرجواني	قشدي فاتح على الحواف وزهري أرجواني في الوسط	5.4
15	FU15	جذور	أبيض خفيف حبيبي	قشدي قاتم	3.5

الجدول (5) أبعاد الأبواغ الكونيدية (الطول × العرض) للعزلات الفطرية *F. oxysporum* و *F. solani*

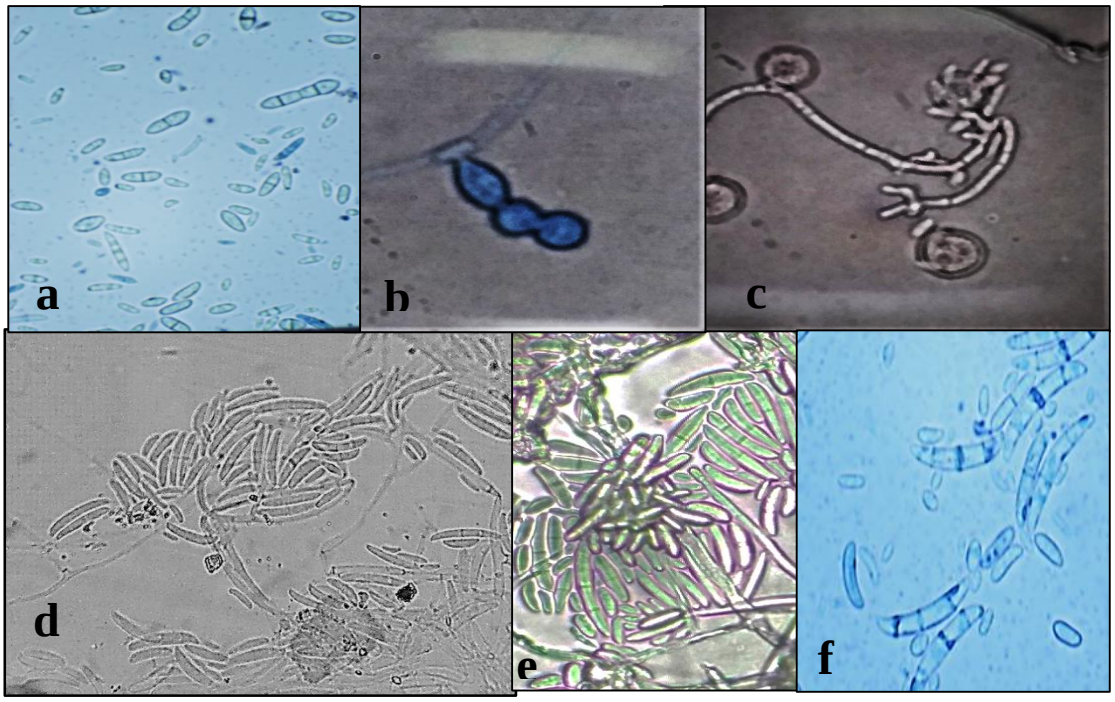
رمز العزلة	نوع العزلة	أبعاد الابواغ الكونيدية الكبرى (µm) Macroconidia	أبعاد الابواغ الكونيدية الصغرى (µm) Macroconidia
FU1	*F. oxysporum*	3.3×33.75	2.2×6.4
FU2	*F. oxysporum*	4.2×36	1.9×9.6
FU3	*F. solani*	3.2×39.75	2.2×6.4
FU4	*F. oxysporum*	4.3×29.25	2.9×7.7
FU5	*F. oxysporum*	5×33.2	1.6×8.5
FU6	*F. solani*	3.2×34	2.5×7.2
FU7	*F. oxysporum*	3.4×27.25	2.3×9.1
FU8	*F. oxysporum*	3.9×28.5	4.4×12.8
FU9	*F. oxysporum*	3.4×29.5	2.6×7.9
FU10	*F. oxysporum*	4.2×42.8	1.8×8.5
FU11	*F. oxysporum*	3×43.25	2.9×9.7
FU12	*F. solani*	3.2×38	1.8×7.2
FU13	*F. oxysporum*	3.6×30.4	3×13.3
FU14	*F. oxysporum*	3.2×34.9	3.4×12.2
FU15	*F. solani*	4.5×35.2	2.3×7.4



الشكل (2) التوصيف الشكلي لأبواغ العزلات التابعة للنوع *F. solani* باستخدام المجهر الضوئي تكبير ×400، a, b: الابواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia، c: الحوامل الكونيدية الطويلة Conidiophores، d: الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia، e: الابواغ الكلاميدية Chlamydospores

كما شكلت عزلات هذا النوع أبواغاً كونيدية كبرى Macroconidia كانت وفيرة مقوسة إلى هلالية الشكل رفيعة الطرفين وتظهر في بعضها الخلية القاعدية على شكل قدم. البوغة مقسمة ب 3 أو 5 حواجز عرضية ذات جدران رقيقة. أما الابواغ الكونيدية الصغرى Microconidia فوجدت بأعداد كبيرة، وحيدة أو ثنائية الخلية، بيضاوية الشكل أو منحنية قليلاً وتشكلت على رأس الحوامل الكونيدية القصيرة Conidiophores وحيدة الفياليد Monophialides وسجلت أبعاد الابواغ الكونيدية في الجدول (5)، أما الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores كانت مكورة أو بيضاوية سميكة الجدار مفردة عادة طرفية وأحيانا بينية أو ملتحمة ببعضها على شكل سلاسل قصيرة، وتشكلت على المستعمرات القديمة الشكل (3)

بالإضافة إلى صفات الابواغ يتشابه النوع *F. oxysporum* مع النوع *F. solani* لكن يمكن التمييز بينهما من خلال طول الحوامل الكونيدية فهي قصيرة عند النوع الأول وطويلة عند النوع الثاني.



الشكل (3) التوصيف الشكلي لأبواغ العزلات التابعة للنوع *F. oxysporum* باستخدام المجهر الضوئي تكبير ×400، a: الأبواغ الكونيدية الصغرى Microconidia، b: الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores، c: الحوامل الكونيدية القصيرة Conidiophores وحيدة الفياليدات Monophialides، d وe وf: الأبواغ الكونيدية الكبرى Macroconidia

4-4-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية

تظهر نتائج اختبار القدرة الإمراضية على نباتات البندورة الهجين "سمرتيترا" تباين العزلات الفطرية المدروسة في شراستها، وذلك من خلال دراسة المؤشرات المذكورة سابقاً، فقد تفوقت العزلتين اللتين تم عزلهما من طرطوس (بانياس-القلوع) FU6 (*F. solani*) بشدة مرض 56.67% وFU7 (*F. oxysporum*) بشدة مرض 73.33% معنوياً عند مستوى احتمالية 0.05 على بقية العزلات المجموعة من طرطوس واللاذقية والعزلات المأخوذة من مخبر وقاية النبات (مهنا وآخرون، 2019). كما لوحظ انخفاض في شراسة العزلات الفطرية المأخوذة من مخبر وقاية النبات (مهنا وآخرون،2019) وقد يعود ذلك لطول فترة الحفظ، وتكرار تجديد العزلات على أوساط الزرع دون تنشيطها على النبات العائل بالعدوى الصناعية.

4-4-1-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية للنوع *F. solani*

تراوحت متوسطات الوزن الجاف للمجموع الخضري للنبات المصاب بين 3.4 و8.1 غ. فكان أقل وزن للنبات المصاب بالعزلة FU6، بمتوسط 3.4غ بالمقارنة مع الشاهد 9.8غ، كما كان أقل وزن جاف للمجموع الجذري للنبات المصاب بالعزلة FU6 بمتوسط وزن1.5غ وبفروق معنوية مع باقي العزلات. وأعلى وزن للجذر المصاب بالعزلة FU15 بمتوسط 10.7غ، كما تأثر طول النبات المصاب بالعزلة FU6 بمتوسط طول 50.5 سم بالمقارنة مع الشاهد 77 سم، ومع فروق معنوية مع باقي العزلات. أما العزلة التي لم تؤثر في طول النبات فهي العزلة OH2 بمتوسط طول 82.75 سم، كما كانت أعلى شدة للإصابة بالمرض عند العزلة FU6 بالمتوسط 56.7% وفروق معنوية مع باقي العزلات وأقل شدة إصابة بالمرض بلغ 3.3% بالمتوسط عند العزلة OH2 ونتائج التحليل الاحصائي مبينة في الجدول (6)

الجدول(6) اختبار القدرة الإمراضية لعزلات النوع *F. solani* على البندورة

العزلة الفطرية	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للجذر (غ)	طول النبات (سم)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
FU3	5.6^{e}	5.3^{ef}	54.75^{i}	53.3^{b}	75
FU6	3.4^{g}	1.5^{i}	50.5^{j}	56.7^{a}	66.7
FU12	4.5^{f}	6.6^{c}	62.25^{f}	41.7^{c}	58.3
FU15	8.1^{b}	10.7^{a}	58.75^{h}	13.3^{d}	33.3
XR2	5.3^{e}	3.99^{g}	69.5^{e}	6.7^{f}	16.7
SR1	7.2^{c}	5.98^{d}	70.5^{d}	10^{e}	25
RS2-1	6.6^{d}	5.04^{f}	78.5^{b}	13.3^{d}	33.3
OH4-1	5.4^{e}	2.1^{h}	61^{g}	10^{e}	25
OH2	6.6^{d}	5.8^{de}	82.75^{a}	3.3^{g}	8.3
شاهد سليم	9.8^{a}	9.3^{b}	77^{c}	0^{h}	0
$LSD_{0.05}$	0.5137	0.5686	0.5867	2.129	

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة في نفس العمود تدل على وجود فروق معنوية بين متوسطات المؤشرات

4-4-2-اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية للنوع *F. oxysporum*

حققت النباتات المصابة بالعزلة HR4 أقل وزن جاف للمجموع الخضري بمتوسط 4.17غ وبفرق ظاهري مع العزلة FU7 بمتوسط 4.64غ، وحققت النباتات المصابة بالعزلة OH13 أعلى وزن جاف بمتوسط 10.5غ، كما تراوحت متوسطات الوزن الجاف للمجموع الجذري للنبات المصاب بين 1.66 و9.9غ وكان أقل وزن جاف للمجموع الجذري للنبات المصاب بالعزلة FU7 بمتوسط 1.66غ، وبفرق معنوي مع جميع العزلات، كما تراوحت متوسطات طول النبات بين 46.25و79 سم، وكان اقل طول عند النبات المصاب بالعزلة FU7 بمتوسط 46.25 سم وبفرق معنوي مع باقي العزلات. كما حققت FU7 أعلى شدة للإصابة بالمرض بنسبة 73.3% وبفرق معنوي مع جميع العزلات وأقل شدة للإصابة بالمرض كان عند العزلة OH1-1 بمتوسط 6.7%. الجدول(7)

بناءً على النتائج المبينة في الجدول (6) والجدول (7) تم انتخاب العزلتين الشرستين FU6 وFU7 اللتين حققتا أكبر شدة مرضية وأكبر تأثير في مؤشرات النمو، لاستخدامها في الاختبارات اللاحقة.

4-5-اختبار قابلية عدة أصناف وبعض الأصول البرية للبندورة المتوفرة محلياً للإصابة بذبول فوزاريوم

بينت نتائج التحليل الاحصائي لاختبار الشراسة ان العزلات FU7 (*F. oxysporum*) وFU6 (*F. solani*) كانتا الأعلى شراسة فتم اختيارهما لتقييم قابلية الإصابة بالمرض لـ 21 صنف وهجين بندورة مزروعة محلياً بالإضافة لـ 8 أصول برية تابعة للنوع *Solanum lycopersicum L.*

أصيبت أغلب الأصناف والهجن والأصول البرية تحت ظروف العدوى الاصطناعية بالمرض وبدرجات متباينة. وبدأت الأعراض تظهر على النباتات خلال 20 يوماً من بداية التجربة حيث ظهر عليها ضعف في النمو وتهدل للأوراق ولاحقاً ظهر اصفرار الأوراق السفلية من أسفل النبات وباتجاه الأعلى حتى الموت كما لوحظت التلونات البنية ضمن الساق وتحلل الجذور وتلونها بالبني وتقزم النباتات وعلى أثرها تم حساب شدة الإصابة بالمرض.

الجدول(7) اختبار القدرة الإمراضية لعزلات النوع *F. oxysporum* على البندورة

العزلة الفطرية	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للجذر (غ)	طول النبات (سم)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
FU1	5.3^{efghi}	5.4^{e}	71.75^{f}	30.3^{e}	50
FU2	8.04^{bc}	7.85^{c}	75^{d}	33.3^{f}	58.3
FU4	7.28^{cd}	3.52^{g}	55.25^{k}	13.3^{c}	33.3
FU5	5.06^{fghi}	5.39^{e}	68.25^{h}	41.7^{h}	58.3
FU7	4.64^{hi}	1.66^{j}	46.25^{o}	73.3^{j}	83.3
FU8	5.8^{defghi}	4.2^{f}	54.25^{l}	13.3^{c}	33.3
FU9	4.19^{i}	2.48^{hi}	49.5^{n}	13.3^{c}	33.3
FU10	6.4^{cdefgh}	3.55^{g}	63.25^{j}	13.3^{c}	25
FU11	4.99^{ghi}	7.82^{c}	64.25^{i}	35^{g}	33.3
FU13	7.27^{cde}	9.4^{b}	78^{b}	13.3^{c}	33.3
FU14	6.7^{cdefg}	9.9^{a}	75^{d}	68.3^{i}	83.3
OH1-1	6.97^{cdef}	5.2^{e}	79^{a}	6.7^{b}	16.7
OH1-1-2	6.5^{cdefgh}	2.75^{h}	70.25^{g}	6.7^{b}	16.7
OH13	10.5^{a}	6.28^{d}	73.5^{e}	13.3^{c}	25
HR4	4.17^{i}	2.29^{i}	52.5^{m}	20^{d}	41.7
شاهد سليم	9.8^{ab}	9.3^{b}	77^{c}	0^{a}	0
$LSD_{0.05}$	1.978	0.45	0.5216	1.2754	

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة في نفس العمود تدل على وجود فروق معنوية بين متوسطات المؤشرات

تراوح متوسط شدة الاصابة بـ *F. oxysporum* بين 0 و53.33 % والهجين الأكثر مقاومة للمرض هو بلحي شوكولا حيث كان متوسط شدة المرض ونسبة الإصابة معدومين، وبفرق معنوي مع باقي الهجن المحلية. اما بالنسبة للفطر *F. solani* فتراوحت شدة الإصابة ما بين 0 و56.68 % وكان الصنفان الأكثر مقاومة للإصابة هما بلحي شوكولا ومجدلينا، حيث كان متوسط شدة الإصابة ونسبة الإصابة معدومين وحققا فروق معنوية مع باقي الأصناف والهجن، ويوضح الجدول (8) قابلية إصابة أصناف البندورة المحلية بالممرض بعد 3 أشهر من العدوى.

الجدول (8) تقييم الإصابة بمسببات ذبول فوزاريوم على أصناف وهجن البندورة المزروعة محلياً

أصناف وهجن البندورة	*F. oxysporum* (العزلة FU7)				*F. solani* (العزلة FU6)			
	شدة المرض%	نسبة الإصابة%	تقييم العائل 5-1	حالة النبات	شدة المرض%	نسبة الإصابة%	تقييم العائل 5-1	حالة النبات
بلحي شوكولا	0^{n}	0	1	R	0^{l}	0	1	R
مجدلينا	3.33^{m}	8.33	1	R	0^{l}	0	1	R
مندلون	6.68^{l}	16.67	2	MR	6.65^{k}	16.67	2	MR
روسي	10^{k}	25	3	MS	6.65^{k}	16.67	2	MR
388	16.65^{j}	33.33	4	S	24.98^{h}	50	4	S
175	16.67^{j}	41.67	4	S	20^{i}	50	4	S
بستونا	30^{g}	58.33	5	HS	13.33^{j}	33.33	3	MS
ريا	35^{f}	58.33	5	HS	36.65^{f}	58.33	5	HS
ريد غارد	19.97^{i}	41.67	4	S	56.68^{a}	83.33	5	HS
كسواني 402	23.35^{h}	58.33	5	HS	24.98^{h}	50	4	S
كسواني 400	53.33^{a}	75	5	HS	26.68^{h}	58.33	5	HS
دلال	28.33^{g}	50	4	S	43.33^{d}	75	5	HS
258	33.33^{f}	58.33	5	HS	45^{d}	75	5	HS
قاسيون	40^{e}	66.67	5	HS	51.68^{b}	83.33	5	HS
SE	40^{e}	75	5	HS	40^{e}	75	5	HS
راما	40^{e}	75	5	HS	48.33^{c}	83.33	5	HS
كرزي RS	41.65^{de}	66.67	5	HS	56.68^{a}	58.33	5	HS
رندلى	43.33^{cd}	75	5	HS	33.33^{g}	75	5	HS
ليو	45^{c}	75	5	HS	38.33^{ef}	75	5	HS
دومينا	48.33^{b}	75	5	HS	48.33^{c}	75	5	HS
هدى	50^{b}	83.33	5	HS	48.33^{c}	75	5	HS
LSD 0.05	2.857				2.945			

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية في تأثير العزلات الفطرية في المؤشرات المدروسة للأصناف، R مقاوم، MR معتدل المقاومة، MS معتدل القابلية للإصابة، S قابل، HS عالي القابلية

وبالنسبة للأصول البرية، كان أفضل الأصول في مقاومة الإصابة هو الأصل Multifort F1 فكانت مقاومته للإصابة بـ *F. oxysporum* 100%، وبالنسبة لـ *F. solani* 96.67%. ويوضح الجدول (9) قابلية إصابة الأصول البرية بالفطر الممرض بعد العدوى بالمعلق البوغي للمسبب المرضي بعد 3 أشهر من العدوى

الجدول (9) تقييم قابلية إصابة الأصول البرية بالفطر الممرض بعد 3 أشهر من العدوى

***F. oxysporum* (العزلة FU7)**				
أصل البندورة البري	**شدة المرض (%)**	**نسبة الإصابة (%)**	**تقييم العائل 5-1**	**حالة النبات**
Multifort F1	0^{a}	0	1	مقاوم R
TD-4	3.33^{b}	8.33	1	مقاوم R
Embajador RZ	6.65^{c}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Estamino F1	6.68^{c}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Fortamino F1	6.68^{c}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Enpower	10^{d}	25	3	متوسط القابلية MS
Defensor F1	13.33^{e}	25	3	متوسط القابلية MS
Beaufort F1	23.33^{f}	41.67	4	قابل للإصابة S
	0.6866	**LSD 0.05**		
***F. solani* (العزلة FU6)**				
Multifort F1	3.33^{a}	8.33	1	مقاوم R
Estamino F1	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Fortamino F1	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Enpower	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
TD-4	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Embajador RZ	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Defensor F1	6.65^{b}	16.67	2	متوسط مقاومة MR
Beaufort F1	19.98^{c}	41.67	4	قابل للإصابة S
	0.4632	**LSD 0.05**		

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية في تأثير العزلات على المؤشرات المدروسة للأصول.R مقاوم، MR معتدل المقاومة، MS معتدل القابلية للإصابة، S قابل، HS عالي القابلية

4-6-عزل البكتيريا من جذور نبات البندورة ومن التربة المحيطة بالجذور

أُخذت 30 عزلة بكتيرية من جذور نباتات البندورة السليمة و18 عزلة بكتيرية من التربة الموجودة في منطقة المحيط الجذري التي تم جمعها عامي 2020 و2021 من البيوت المحمية في محافظتي طرطوس واللاذقية والتي كانت فيها الإصابة منتشرة ومن مواقع أخرى كما هو موضح في الجدول (2).

تدرج لون المستعمرات من الأبيض إلى القشدي أو المصفر أو البرتقالي وبعضها تنشر صبغة خضراء مصفرة أو تميل للون البني في وسط الزرع. ملساء شفافة أو عاتمة قليلاً، محدبة المركز أو ذات حفرة تشبه فوهة البركان، مسطحة منتظمة الحواف أو غير منتظمة، مستديرة إلى بيضاوية الشكل وتراوحت أقطار المستعمرات النقية النامية على وسط NA بعد 48 ساعة من التحضين بين 0.5 و5 مم (الجدول 10)

الجدول (10) العزلات البكتيرية المعزولة من جذور النباتات السليمة والتربة المحيطة بالجذور

رمز المستعمرة	مصدر العزل	وصف المستعمرة	قطر المستعمرة بعد 48 ساعة من التحضين (مم)
A11	جذور البندورة	مدورة الشكل شفافة بلون أبيض مائل للأصفر	2 مم
A12	جذور البندورة	ملساء غير منتظمة الحواف في الوسط بلون قشدي ومحاطة بهالة شفافة	2.5 مم
A13	جذور البندورة	مدورة قشدية مصفرة محدبة	2 مم
B21	جذور البندورة	كثيفة مدورة برتقالية شفافة انتجت صبغة خضراء في الوسط	1 مم
B22	جذور البندورة	غير منتظمة الحواف شفافة بلون أبيض انتجت صبغة خضراء في الوسط	2 مم
B23	جذور البندورة	مدورة شفافة بلون أبيض انتجت صبغة خضراء في الوسط	2 مم
C31	جذور البندورة	مدورة شفافة بلون أبيض انتجت صبغة خضراء في الوسط	3 مم

C32	جذور البندورة	مدورة بلون أبيض مائل للأصفر انتجت صبغة خضراء في الوسط	3 مم
C33	جذور البندورة	غير منتظمة الحواف شفافة بلون أبيض انتجت صبغة خضراء في الوسط	3 مم
D41	جذور البندورة	صغيرة بلون أبيض شفافة غير منتظمة الحواف	0.5 مم
D42	جذور البندورة	مدورة قشدية بلون برتقالي	1 مم
D43	جذور البندورة	مدورة بلون أبيض شفافة	2 مم
E51	جذور البندورة	قليلة الكثافة مدورة بلون أبيض مائل للأصفر شفافة	4 مم
E52	جذور البندورة	قليلة الكثافة غير منتظمة الحواف بلون أبيض قشدية	2 مم
E53	جذور البندورة	قليلة الكثافة مدورة بلون أبيض شفافة	1 مم
F61	جذور البندورة	كثيفة جداً مدورة بلون أبيض مائل للأصفر شفافة	2 مم
F62	جذور البندورة	كثيفة جداً مدورة بلون أبيض مائل للأصفر شفافة	1 مم
F63	جذور البندورة	ملساء غير منتظمة الحواف بلون أبيض قشدية	1 مم
G71	جذور البندورة	غير منتظمة الحواف بلون أبيض قشدية	2 مم
G72	جذور البندورة	مدورة صغيرة بلون برتقالي قشدية	1 مم
G73	جذور البندورة	مدورة كبيرة الحجم بلون أبيض قشدية	4 مم
G74	جذور البندورة	مدورة كثيفة بلون أبيض شفافة	2 مم
H81	جذور البندورة	مدورة بلون أبيض قشدية	1 مم
H82	جذور البندورة	غير منتظمة الحواف بلون أبيض شفافة	2 مم
I91	جذور البندورة	مدورة مع قبة في الوسط بلون أبيض قشدية	4 مم
I92	جذور البندورة	مدورة بلون أبيض شفافة	3 مم
I93	جذور البندورة	مدورة بلون أبيض قشدية المظهر	1 مم
J01	جذور البندورة	غير منتظمة الحواف شفافة بلون أبيض	3 مم
J02	جذور البندورة	مدورة بيضاء اللون قشدية مع قبة في الوسط مثل فوهة البركان وهالة بيضاء	4 مم

J03	جذور البندورة	بيضاوية شفافة بلون أبيض مائل للأصفر	1 مم
K11	تربة	غير منتظمة الحواف بيضاء قشدية مع قبة في الوسط مشرشرة الحواف	4 مم
L21	تربة	غير منتظمة الحواف وفي الوسط بلون اصفر وفي الحواف بلون أبيض	3 مم
L22	تربة	مدورة بلون اصفر مائل للبرتقالي شفافة	2.5 مم
M31	تربة	غير منتظمة الحواف بيضاء شفافة وفي الوسط بلون أبيض غامق والهالة بلون فاتح	3 مم
N41	تربة	مدورة بلون اصفر برتقالي شفافة صغيرة الحجم	1 مم
O51	تربة	مدورة بيضاء اللون قشدية	1.5 مم
O52	تربة	مدورة بلون اصفر شفافة	1 مم
P61	تربة	بيضاوية شفافة بلون اصفر	0.5 مم
P62	تربة	مدورة قشدية بلون أبيض	2 مم
P63	تربة	كبيرة مدورة قشدية بلون أبيض	4 مم
Q71	تربة	مدورة كبيرة الحجم بلون أبيض قشدية المظهر	5 مم
Q72	تربة	مدورة بلون أبيض مائل للأصفر شفافة	1 مم
Q73	تربة	مدورة بلون أبيض قشدية المظهر	0.5 مم
R81	تربة	مدورة بلون أبيض مائل للأصفر شفافة	1 مم
R82	تربة	مدورة بلون أبيض شفافة	1 مم
S91	تربة	مدورة تأخذ شكل زهرة الغريب شعاعية كالشمس بلون برتقالي شفافة	2 مم
T01	تربة	مدورة بلون اصفر قشدية المظهر	0.5 مم
T03	تربة	غير منتظمة الحواف بلون أبيض قشدي مائل للأصفر	2 مم
RIZN	جذور النفل الأرجواني	غير منتظمة الحواف محدبة ملساء بلون أبيض	2.5 مم

4-7-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة في تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة مخبرياً

أظهرت نتائج التجربة الأولى في اختبار صفة التضاد للعزلات البكتيرية المعزولة من جذور نبات البندورة والتربة المحيطة بها ومن مصادر أخرى ضد مسبب ذبول فوزاريوم *F. solani* و *F. oxysporum* في الزجاج *In vitro* على الوسط المغذي (PDA+ NA)، ان هناك 8 عزلات أبدت صفة التضاد أو التثبيط ضد النوع *F. oxysporum* و 10 عزلات ضد النوع *F. solani* من أصل 49 عزلة بكتيرية، ومن بينها 6 عزلات أبدت صفة التضاد تجاه النوعين الفطريين، أما باقي العزلات فلم تؤثر في النمو الفطري حيث غطت مشيجة الفطر كامل سطح الوسط حتى فوق النمو البكتيري، ولم يكن هناك أي فاصل او مسافة تضاد تفصل بين النمو الفطري والبكتيري.

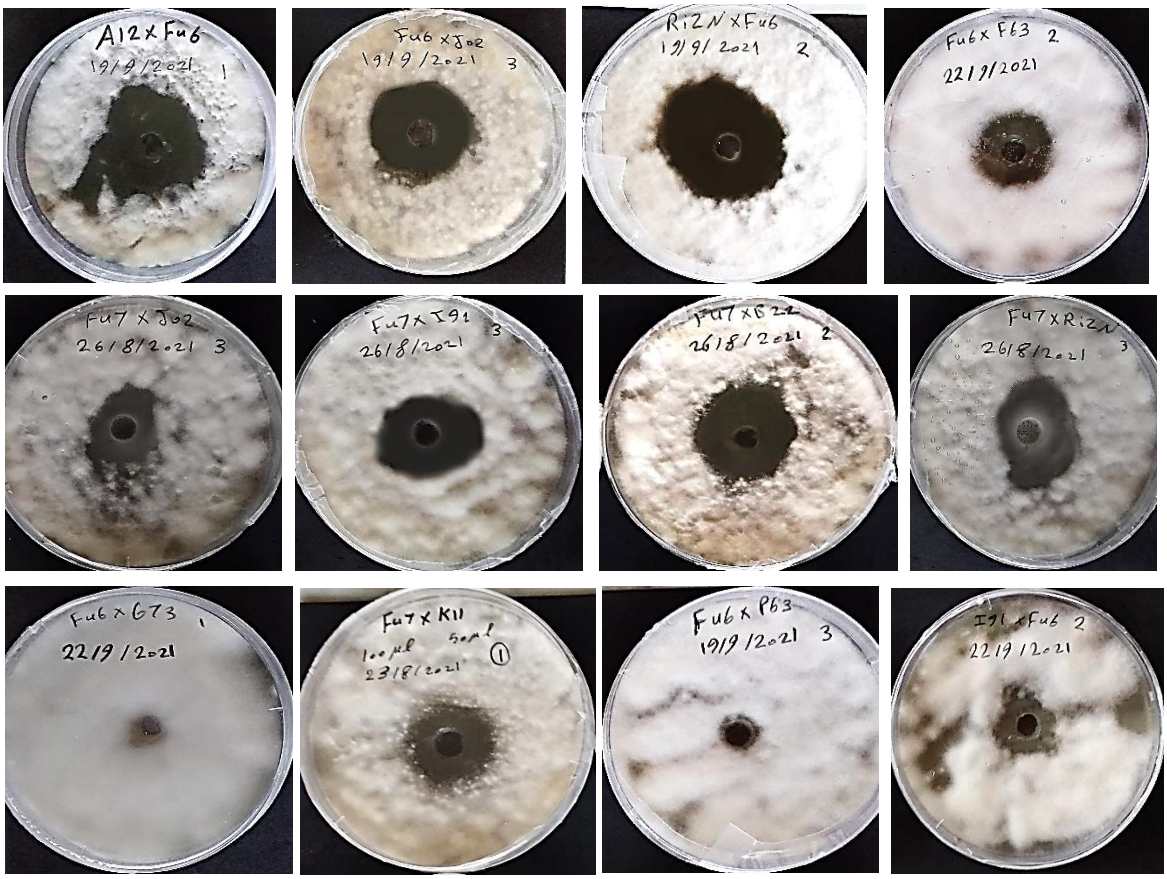
يوضح الجدول (11) مسافات التضاد Antagonistic distance بين نهايات نمو العزلات البكتيرية والفطرية. العزلة البكتيرية I91 تفوقت على باقي العزلات في تثبيط النمو الفطري للنوع *F. solani* بمتوسط مسافة تضاد 10 مم. أما بالنسبة للعزلات البكتيرية التي أبدت صفة التضاد ضد النوع *F. oxysporum*، كانت أفضلها العزلة J02 بمتوسط مسافة تضاد 11.67 مم.

ويبين الجدول (11) من خلال التحليل الاحصائي ومقارنة المتوسطات باستخدام اختبار LSD واختبار دانكن على مستوى معنوية 1%، تفوق العزلة البكتيرية I91 على باقي العزلات في تثبيط النمو الفطري للنوع *F. solani* بمتوسط نسبة تثبيط 55.57 %. أما بالنسبة للعزلات البكتيرية التي أبدت صفة التضاد ضد النوع *F. oxysporum* كانت أفضلها العزلة J02 بنسبة تثبيط 55 %.

وعند اختبار تأثير تضاد الراشح البكتيري تجاه العزلات الفطرية الممرضة بطريقة التضاد بالحفرة فقدت العزلات البكتيرية G73 وP61 وP63 وS91 قدرتها على تثبيط نمو المشيجة الفطرية حيث غطت المشيجة الفطرية كامل سطح الطبق دون وجود مسافة فاصلة. كما أظهر جدول ANOVA وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط نمو الفطر *F. solani* وكانت العزلة RIZN هي الأقوى في تثبيط نمو الفطر بنسبة تثبيط

43.8 % ومسافة تضاد 36.3 مم (الجدول 12). وتم توضيح مسافات تضاد العزلات البكتيرية لمسببي الذبول بطريقة الحفرة في الشكل (4).

أما بالنسبة للعزلات البكتيرية التي ثبطت نمو النوع *F. oxysporum* أيضا وُجد بينها فروق معنوية في تثبيط نمو الفطر الممرض وكانت العزلة I91 هي الأقوى بنسبة تثبيط 33.3 %، أما بالنسبة لمسافة التضاد تفوقت العزلة I91 بمتوسط 27.7 مم وبفرق ظاهري مع العزلة J02 بمتوسط 27 مم (الجدول 12).



الشكل (4) اختبار تضاد العزلات البكتيرية للعزلات الفطرية مخبرياً باستخدام طريقة التضاد بالحفرة

تبين أن أفضل العزلات في تثبيط كلتا العزلتين الفطريتين في طريقة التضاد بالقطاعات هي العزلة J02، كما كانت أفضل العزلات في تثبيط العزلات الفطرية في طريقة التضاد بالحفرة هي العزلتين JO2 وRIZN وبفرق معنوي مع باقي العزلات البكتيرية (الجدول 13)

الجدول (11) مسافة التضاد Antagonistic distance ونسبة التثبيط Inhibition بين فطر الذبول بنوعيه *F. solani* و*F. oxysporum* والعزلات البكتيرية التي ثبطت نمو الفطر مخبرياً في تجربة التضاد بالقطاعات

رمز العزلة البكتيرية المضادة	مصدر العزلة	أقرب مسافة نمو فاصلة بين العزلة البكتيرية والفطر الممرض /مم				نسبة التثبيط (%) Inhibition
		المكرر 1	المكرر 2	المكرر 3	المتوسط	
***F. solani* (العزلة FU6)**						
A12	جذور البندورة	2	5	3	3.3^{d}	48.17^{d}
B22	جذور البندورة	2	5	2	3^{de}	47.8^{d}
C33	جذور البندورة	3	5	2	3.3^{d}	48.17^{d}
F63	جذور البندورة	3	4	3	3.3^{d}	48.17^{d}
G73	جذور البندورة	3	2	2	2.3^{e}	47.07^{e}
I91	جذور البندورة	10	5	15	10^{a}	55.57^{a}
J02	جذور البندورة	10	8	5	7.7^{b}	52.97^{b}
K11	التربة المحيطة بجذور البندورة	3	3	10	5.3^{c}	50.4^{c}
P63	التربة المحيطة بجذور البندورة	2	2	3	2.3^{e}	47.07^{e}
RIZN	جذور النفل الارجواني	5	8	5	6^{c}	51^{c}
$LSD_{0.01}$					0.8208	0.6646
***F. oxysporum* (العزلة FU7)**						
B22	جذور البندورة	5	7	7	6.3^{D}	51.47^{C}
C33	جذور البندورة	8	10	10	9.3^{B}	54.83^{A}
I91	جذور البندورة	5	10	5	6.7^{D}	51.87^{C}
J02	جذور البندورة	18	10	7	11.7^{A}	55^{A}
K11	التربة المحيطة بجذور البندورة	5	7	7	6.3^{D}	51.47^{C}
P61	التربة المحيطة بجذور البندورة	5	2	3	3.3^{F}	48.17^{E}
S91	التربة المحيطة بجذور البندورة	5	5	5	5^{E}	50^{D}
RIZN	جذور النفل الارجواني	5	10	9	8^{C}	52.6^{B}
$LSD_{0.01}$					0.7819	0.6904

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط *F. solani* والاحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط *F. oxysporum*

الجدول (12) مسافة التضاد ونسبة التثبيط بين فطر الذبول بنوعيه *F. solani* و *F. oxysporum* والعزلات البكتيرية المعزولة من جذور وتربة المحيط الجذري لنبات البندورة ومصادر أخرى التي ظهرت في تجربة التضاد بالحفرة

***F. solani* (العزلة FU6)**					
نسبة التثبيط (%) Inhibition	**مسافة التضاد /مم**				**رمز العزلة البكتيرية المضادة**
	المتوسط	**المكرر 3**	**المكرر 2**	**المكرر 1**	
35.8^{c}	29.7^{c}	23	33	33	**A12**
23.7^{f}	19.7^{e}	23	23	13	**B22**
24.5^{e}	20.3^{e}	15	23	23	**C33**
29.3^{d}	24.3^{d}	27	23	23	**F63**
20.5^{h}	17^{g}	29	3	19	**I91**
37.3^{b}	31^{b}	35	31	27	**J02**
21.3^{g}	17.7^{f}	13	27	13	**K11**
43.8^{a}	36.3^{a}	43	33	33	**RIZN**
0.6367	0.6490	**LSD 0.01**			
***F. oxysporum* (العزلة FU7)**					
29.3^{C}	24.3^{B}	27	33	13	**B22**
23.7^{E}	19.7^{D}	7	19	33	**C33**
33.3^{A}	27.7^{A}	33	25	25	**I91**
32.5^{B}	27^{A}	21	27	33	**J02**
29.3^{C}	24.3^{B}	23	23	27	**K11**
25.3^{D}	21^{C}	33	17	13	**RIZN**
0.4974	0.7449	**LSD 0.01**			

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط *F. solani* والاحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط *F. oxysporum*

الجدول (13) مسافة التضاد ونسبة التثبيط التي ابدتها العزلات البكتيرية ضد كلتا العزلتين الفطريتين

العزلة البكتيرية	التضاد بالقطاعات		التضاد بالحفرة	
	مسافة التضاد	نسبة التثبيط	مسافة التضاد	نسبة التثبيط
A12	1.65^{g}	24.09^{f}	14.85^{e}	17.9^{e}
B22	4.65^{e}	49.63^{d}	22^{b}	26.5^{b}
C33	6.3^{d}	51.50^{b}	20^{d}	24.1^{d}
F63	1.65^{g}	24.09^{f}	12.15^{f}	14.65^{f}
I91	8.35^{b}	53.72^{a}	22.35^{b}	26.9^{b}
J02	9.7^{a}	53.98^{a}	29^{a}	34.9^{a}
K11	5.8^{d}	50.94^{c}	21^{c}	25.3^{c}
RIZN	7^{c}	51.80^{b}	28.65^{a}	34.55^{a}
G73	1.15^{g}	23.53^{g}	-	-
P61	1.65^{g}	24.09^{f}	-	-
P63	1.65^{g}	23.53^{g}	-	-
S91	2.5^{f}	25^{e}	-	-
$LSD_{0.01}$	0.5412	0.5076	0.4521	0.5006

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة في نفس العمود تدل على وجود فروق معنوية في تأثير العزلات على المؤشرات المدروسة

4-8-تعريف البكتيريا المعزولة المثبطة لنمو مسبب ذبول فوزاريوم

عُرِفت العزلات البكتيرية التي اظهرت تأثير مضاد ضد عزلات الفطر الممرض بيوكيميائياً وهي موضحة في الجدول (14). حيث قسمت العزلات البكتيرية بناءً على نتائج الاختبارات البيوكيميائية إلى مجموعتين: الأولى عصويات سالبة غرام، هوائية اجبارية، متحركة، وتقوم بإنتاج الصبغات الوميضية على وسط king B، وتنتج انزيم السيتوكروم اكسيداز والكاتلاز واليورياز، ولا تشكل ابواغ في درجات الحرارة المرتفعة، ولا تحلمه الدم على درجة الحرارة 37°س. والثانية عصويات موجبة غرام، هوائية اختيارياً (عدا I91 هوائية اجبارية)، متحركة، وسالبة في اختبار الوميض وإنتاج انزيم السيتوكروم اكسيداز وإنتاج الكريستالات، لكنها تقوم بتشكيل الأبواغ في درجات الحرارة المرتفعة، وقامت بإنتاج انزيم الكاتلاز وحللت النشاء، وقادرة على انتاج acetyl-methyl carbinol من تخمير

الجدول (14) الاختبارات البيوكيميائية لتعريف العزلات البكتيرية

رمز العزلة البكتيرية	A12	B22	C33	F63	I91	J02	K11	RIZN
شكل الخلية	عصوية	عصوية	عصوية	عصوية	عصوية	عصوية	عصوية	عصوية
	ذات توضع عشوائي				مرتبة بشكل سطور			
غرام	-	-	-	-	+	+	+	+
التبوغ	-	-	-	-	+	+	+	+
الاكسيداز	+	+	+	+	-	-	-	-
انتاج الصبغات الوميضية	+	+	+	+	-	-	-	-
فرط الحساسية على التبغ	-	-	-	-	-	-	-	-
التنفس	هوائية اجبارية	هوائية اجبارية	هوائية اجبارية	هوائية اجبارية	هوائية اجبارية	هوائية اختيارية	هوائية اختيارية	هوائية اختيارية
الكاتلاز	+	+	+	+	+	+	+	+
تحمل NaCl 2%	+	+	+	+	+	+	+	+
ميتيل ريد	-	+	-	+	-	-	-	-
اليورياز	+	+	+	+	+	-	-	-
تحلل البكتين	-	-	-	-	+	+	+	+
تحلل الجيلاتين	+	+	+	+	+	+	+	+
تحلل النشاء	-	+	+	-	+	+	+	+
الحركة	+	+	+	+	+	+	+	+
voges-proscaver	-	-	-	-	+	+	+	+
حلمهة الدم	-	-	-	-	+	+	+	+
تكوين الكريستالات	-	-	-	-	-	-	-	-
تعريف العزلة	*Pseudomonas fluorescens*				*Bacillus cereus*			

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

الغلوكوز، كما تحلمه الدم على درجة حرارة 37°س ذات نمط hemolytic β ويكون لون المستعمرات على الوسط Blood Agar كريمي إلى أبيض او رمادي وله مسحة خضراء. كما ان جميع العزلات لم تحرض فرط الحساسية على أوراق نبات التبغ، وتنتج أنزيم الجيلاتيناز. وبمقارنة هذه النتائج مع مرجع تصنيف البكتيريا BERGEY´S MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY أمكن تصنيفها، فكانت المجموعة الأولى تابعة للنوع *Pseudomonas fluorescens* (4 عزلات)، والمجموعة الثانية تابعة للنوع *Bacillus cereus* (4 عزلات).

4-9-اختبار قدرة البكتيريا المعزولة في تثبيط نمو مسبب ذبول فوزاريوم على البندورة في الأصص

دُرس تأثير العزلات البكتيرية التي أظهرت تأثير تثبيطي للعزلات الفطرية لمسبب ذبول فوزاريوم في المخبر في كبح المرض، في الأصص من حيث تأثيرها في مؤشرات النمو لنبات البندورة. قورنت النتائج مع نتائج استخدام المبيد نوفوتريت ذو الأساس الحيوي الذي يحتوي البكتيريا *Bacillus amyloliquefaciens* FD777 والمبيد الكيميائي بلتانول والميكوريزا الحويصلية *Vesicular arbuscular mycorrhiza* VAM وفطر *Trichoderma harzianum*. واجريت المقارنة بين المعاملات بناءً على الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري للنباتات المعاملة والشاهد وطول النباتات وشدة المرض (%)وفق السلم المعتمد ونسبة الإصابة (%).

يظهر جدول ANOVA وجود فروق معنوية بين المعاملات المطبقة في تثبيط النوع *F. solani* ومن مقارنة المتوسطات باستخدام اختبار Duncan ومقارنة المعاملات بناءً على سلم الإصابة تبين انخفاض شراسة العزلة FU6 في هذه التجربة إلى 33.33% بينما كانت عند المقارنة بين عزلات *F. solani* في اختبار القدرة الإمراضية على الصنف القابل "سمرتيترا" 56.7%، وحققت المعاملة بالبكتيرية C33(*P. fluorescens*) وRIZN (*B. cereus*) أفضل تثبيط فكانت شدة المرض 3.33% ونسبة الإصابة 8.33%، وأفضل المبيدات التجارية في تثبيط الإصابة و زاد طول النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري هو *Trichoderma*.

الجدول (15) تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط الفطر *F. solani* على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية

المعاملة	طول النبات (سم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
شاهد معدى	42.5^{k}	3.72^{fg}	1.57^{g}	33.33^{a}	58.33
شاهد سليم	62^{d}	4.77^{cd}	3.025^{cd}	0^{h}	0
FU6*A12	52.5^{i}	4.32^{de}	2.05^{fg}	23.33^{c}	41.67
FU6*B22	52.5^{i}	3.35^{g}	2.3^{ef}	10^{e}	25
FU6*C33	70^{b}	5.05^{c}	4.35^{b}	3.33^{g}	8.33
Fu6*F63	63.25^{c}	4.75^{cd}	4.9^{a}	6.67^{f}	16.67
FU6*I91	58.25^{f}	4.12^{ef}	2.42^{ef}	23.33^{c}	41.67
FU6*JO2	56.75^{h}	4.12^{ef}	1.55^{g}	26.67^{b}	50
FU6*K11	76^{a}	6.55^{a}	4.025^{b}	6.67^{f}	16.67
FU6*RIZN	57^{gh}	5.1^{c}	3.47^{c}	3.33^{g}	8.33
FU6*NOVOTREAT	58.75^{e}	4.37^{de}	2.65^{de}	16.67^{d}	33.33
FU6* *Trichoderma*	69.75^{b}	6.05^{b}	3.075^{cd}	6.67^{f}	16.67
FU6*Beltanol	47.5^{j}	3.4^{g}	1.97^{fg}	16.67^{d}	33.33
FU6* VAM	57.25^{g}	4.22^{e}	4.4^{ab}	16.67^{d}	33.33
$LSD_{0.05}$	**0.4354**	**0.4724**	**0.5486**	**0.5895**	

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات في تثبيط FU6 على نبات البندورة

وُجد هناك فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تأثيرها على طول النبات فكانت أفضل العزلات K11 (*B. cereus*). وبالنسبة لتأثير العزلات البكتيرية على الوزن الجاف للمجموع الخضري زادت العزلات K11 الوزن الجاف للنبات أكثر من الشاهد السليم، اما بالنسبة لتأثير الفطر الممرض على الوزن الجاف للمجموع الجذري فأكثر

العزلات البكتيرية التي زادت وزن الجذور F63 (*P. fluorescens*) ولم تظهر فروق معنوية بينها وبين المعاملة بالميكوريزا الحويصلية VAM. (الجدول 15)

الجدول (16) تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط الفطر *F. oxysporum* على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية

المعاملات	طول النبات (سم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
شاهد معدى	47.25^{i}	2.23^{g}	1.5^{h}	70^{a}	83.33
شاهد سليم	62^{de}	3.72^{def}	4.4^{c}	0^{h}	0
FU7*A12	57.75^{f}	5.87^{b}	7.7^{a}	3.33^{g}	8.33
FU7*B22	50^{h}	4.7^{c}	2.3^{g}	6.67^{f}	16.67
FU7*C33	50.75^{h}	3.32^{f}	3.55^{d}	43.33^{b}	66.67
FU7*F63	68.75^{a}	4.25^{cd}	5.9^{b}	13.33^{d}	33.33
FU7*I91	61.5^{e}	6.52^{a}	3.57^{d}	10^{e}	25
FU7*JO2	64.5^{bc}	5.47^{b}	2.32^{g}	13.33^{d}	25
FU7*K11	61^{e}	4.8^{c}	2.75^{ef}	6.67^{f}	16.67
FU7*RIZN	63.75^{cd}	3.92^{de}	2.77^{e}	6.67^{f}	16.67
FU7*NOVOTREAT	49.25^{h}	3.72^{def}	4.3^{c}	6.67^{f}	16.67
FU7* *Trichoderma*	65.75^{b}	3.6^{ef}	2.37^{fg}	33.33^{c}	50
FU7*Beltanol	55.75^{g}	3.77^{def}	1.85^{h}	13.33^{d}	25
FU7* VAM	63.75^{cd}	3.97^{de}	3.42^{d}	43.33^{b}	66.67
$LSD_{0.05}$	**1.931**	**0.5823**	**0.3988**	**1.0429**	

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات في تثبيط FU7 على نبات البندورة

كما يوضح الجدول (16) ان العزلة FU7 حافظت على شراستها وكانت أفضل العزلات البكتيرية في تثبيط الممرض *F. oxysporum* هي A12 (*P. fluorescens*) بمتوسط شدة مرض 3.33% ونسبة إصابة

8.33%، وأفضل المبيدات التجارية في تثبيط الإصابة هو NOVOTREAT بشدة مرض 6.67% ونسبة إصابة 16.67%.

وُجد هناك فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تأثيرها على طول النبات فكانت أفضل العزلات F63 ومن المبيدات التجارية الفطر *Trichoderma* زاد طول النبات أكثر من الشاهد السليم، كما زادت المعاملة بالعزلة I91 (*B. cereus*) الوزن الجاف للمجموع الخضري للنباتات بالمقارنة مع الشاهد السليم وكانت ذات فرق معنوي معه. وبالنسبة للمبيدات التجارية لم يكن بينها فروق معنوية في زيادة وزن النبات. وجد فروق معنوية بين جميع المعاملات في التأثير على الوزن الجاف للمجموع الجذري وكانت أفضل معاملة هي المعاملة بالعزلة A12 بمتوسط وزن جذور 7.7 غ أكبر من وزن جذور الشاهد السليم وبفرق معنوي معه، ومن بين المبيدات التجارية حققت المعاملة بـ NOVOTREAT أفضل وزن للجذور (4.3غ). (الجدول 16)

وبالإطلاع على النتائج الموضحة في الجدول (17) تبين ان العزلة RIZN التابعة للنوع *Bacillus cereus* المعزولة من جذور نبات النفل الارجواني قامت بتثبيط الإصابة بكلا النوعين الفطريين *F.solani* و *F. oxysporum* حقلياً وبفرق معنوي مع جميع المعاملات. وأفضل المعاملات في زيادة طول النباتات المصابة هي العزلة K11 و*Trichoderma*. وأكثر المعاملات التي زادت وزن النبات هي المعاملة بالعزلتين K11 و I91. وأفضلها في زيادة وزن الجذور العزلة F63.

بناءً على النتائج الموضحة سابقاً في الجداول (13،17) كانت من أفضل العزلات في تثبيط الإصابة بكلا النوعين الفطريين *F.solani* و *F. oxysporum* مخبرياً وحقلياً هي العزلة RIZN التابعة للنوع *Bacillus cereus*.

من خلال حساب معامل الارتباط بين قدرة البكتيريا في تثبيط الفطر *F.solani* في الزجاج والأصص تبين أن الارتباط عكسي (r=−0.101)، وكذلك الامر بالنسبة لـ*F. oxysporum* حيث كان الارتباط عكسي ايضاً(r=−0.092)

الجدول (17) تأثير المعاملات البكتيرية في تثبيط كلا مسببي الذبول على نبات البندورة ومقارنته مع مبيدات كيميائية وحيوية

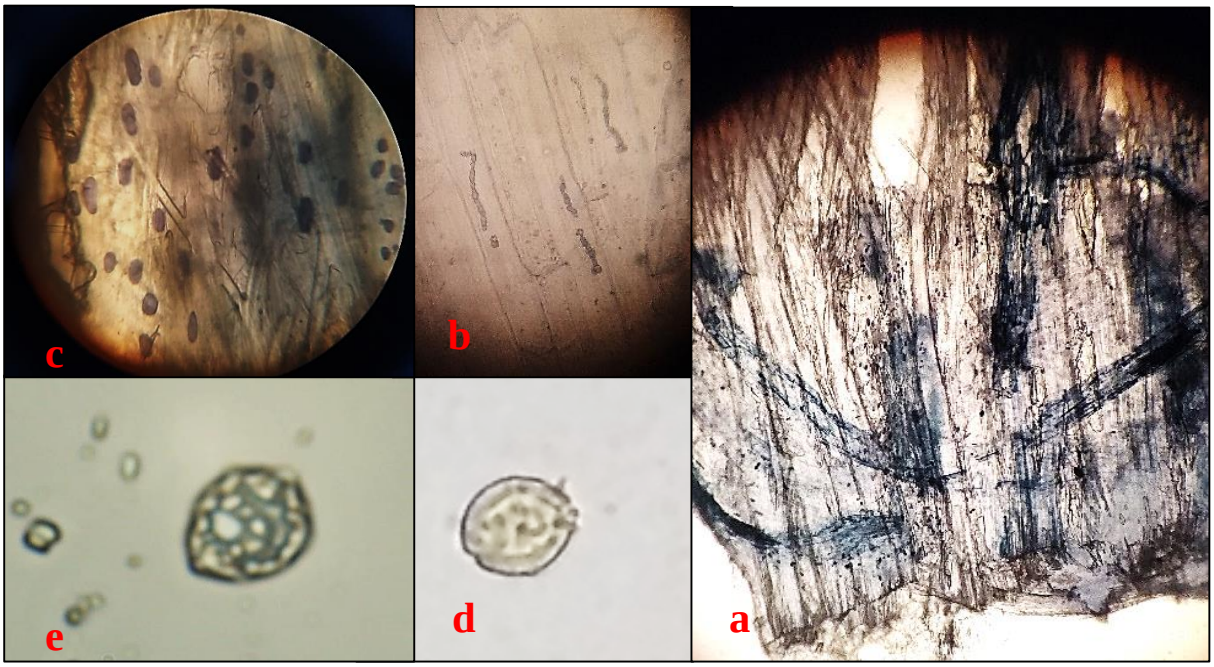
المعاملات	طول النبات (سم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	شدة المرض (%)
شاهد معدى	44.88^{g}	2.975^{h}	1.535^{j}	51.66^{a}
شاهد سليم	62^{c}	4.245^{ef}	3.713^{cd}	0^{m}
A12	55.12^{e}	50.95^{bc}	4.875^{b}	13.33^{g}
B22	51.25^{f}	4.025^{f}	2.3^{h}	8.33^{j}
C33	60.38^{cd}	4.158^{ef}	3.95^{c}	23.33^{c}
F63	66^{b}	4.5^{de}	5.4^{a}	10^{i}
I91	59.88^{d}	5.32^{ab}	2.995^{fg}	16.66^{e}
JO2	60.62^{cd}	4.795^{cd}	1.935^{i}	20^{d}
K11	68.5^{a}	5.675^{a}	3.388^{de}	6.67^{k}
RIZN	60.38^{cd}	4.51^{de}	3.12^{ef}	5^{l}
NOVOTREAT	54^{e}	4.045^{f}	3.475^{d}	11.67^{h}
Trichoderma	67.75^{ab}	4.825^{cd}	2.723^{g}	20^{d}
Beltanol	51.62^{f}	3.585^{g}	1.91^{i}	15^{f}
VAM	60.5^{cd}	4.095^{f}	3.91^{c}	30^{b}
$LSD_{0.05}$	0.78	0.1366	0.1325	0.228

حيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات في تثبيط الإصابة وزيادة مؤشرات النمو

وبالنسبة لتقدير النسبة المئوية لاستعمار جذور نبات الذرة بفطر الميكوريزا وعدد الابواغ في اللقاح الميكوريزي. بلغ متوسط عدد أبواغ الميكوريزا الحويصلية الشجرية VAM *Vesicular arbuscular mycorrhiza* في اللقاح الميكوريزي المحضر 84 بوغ/100 غ لقاح (الجدول 18) علماً أن اللقاح يحوي جذور نبات الذرة الصفراء المستعمرة بالميكوريزا والتربة المحيطة بها والتي تحوي الابواغ

كما تراوح عدد القطع الجذرية المستعمرة بالميكوريزا الحويصلية لجذور نبات الذرة الصفراء بين 15 قطعة في النبات رقم 7 ونسبة استعمار الجذور PRC قدرها 30% و39 قطعة في النبات رقم 5 ونسبة استعمار الجذور PRC قدرها 78%، وبالمتوسط PRC%= 51.5% (الجدول 18)

كما أظهرت نتائج الفحص المجهري للعينات المستخدمة في الدراسة أن فطر الميكوريزا يتبع للجنس *Glomus*. لوحظ وجود الحويصلات والتفرعات الشجرية في المقاطع التشريحية للجذور المتعايشة معها كما كان شكل الابواغ الموجودة في اللقاح الميكوريزي كروية أو بيضاوية ذات لون أصفر شاحب الى أصفر مائل للبني منفردة التوضع أبعادها 64.2-110.5×63.3-110.4 ميكرومتر، جدارها مكون من طبقتين، الطبقة الخارجية خشنة والطبقة الداخلية رفيعة شفافة، كما كانت خيوط الهيفات رفيعة ومتفرعة بشكل غير منتظم كما هو موضح في الشكل (5)



الشكل (5) a، b: مقاطع تشريحية في جذور نبات الذرة الصفراء *Zea mays* باستخدام المجهر الضوئي (تكبير×100) توضح تشكل الحويصلات داخل الخلايا، c: مقطع تشريحي في جذر نبات الذرة باستخدام المجهر الضوئي (تكبير ×400) يوضح شكل الحويصلات البيضاوية والتفرعات الشجرية للميكوريزا بين الخلايا، e،d: أبواغ الميكوريزا الحويصلية VAM الجنس *Glomus spp* التي تم عزلها من المحيط الجذري لنبات الذرة (تكبير×600)

الجدول (18) عدد أبواغ الميكوريزا VAM في اللقاح الميكوريزي وعدد القطع الجذرية لنبات الذرة الصفراء المستعمرة ونسبة استعمار الجذور %PRC

رقم العينة	1		2		3		4		5		6		المتوسط
عدد الابواغ/100 غ لقاح	73		93		91		68		84		95		84
رقم نبات الذرة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	المتوسط
عدد قطع الجذر المستعمرة	25	32	18	27	39	28	15	23	35	20	18	29	25.75
نسبة الاستعمار PRC (%)	50	64	36	54	78	56	30	46	70	40	36	58	51.5

المناقشة Discussion

يُعد ذبول فوزاريوم من أخطر الأمراض الفطرية التي تصيب البندورة في الزراعة المحمية في الساحل السوري، ومن الممكن أن تكون الظروف البيئية مثل درجة الحرارة المرتفعة والرطوبة المرتفعة خلال النهار في البيت البلاستيكي مسؤولة عن انهيار مقاومة أصناف البندورة المختلفة؛ هذا يتماشى مع Alexandrov (2005) الذي ذكر أن درجة الحرارة المنخفضة أو المرتفعة للغاية تؤدي إلى انهيار ملحوظ في مستوى مقاومة النباتات لمسببات الأمراض.

ومن أهم الأعراض التي لوحظت على العينات المصابة بذبول فوزاريوم هي التلونات البنية في الأوعية الناقلة وهذا يتفق مع ما ذكره Burgess وآخرون (2008). بالإضافة إلى ذلك فقد بَيّن الفحص الظاهري للعينات المصابة بالذبول تقزم النبات واصفراره وظهرت أعراض الإصفرار بدءاً من قاعدة الساق باتجاه الأعلى في جانب واحد أو فرع واحد من النبات، حتى في الأوراق فقد شوهد الإصفرار ابتداءً من العرق الوسطي في الورقة وبجانب واحد و ينتقل إلى الجانب الأخر عند وصوله إلى القمة، ثم تذبل وتتساقط الأوراق وقد اتفقت هذه المشاهدات مع ما ذكره نفاع (2008)؛ وربما يعود السبب الفيزيولوجي لهذه الأعراض إلى انسداد الأوعية الناقلة بهيفات الفطر وتشكيل التيلوزات (Srinivas *et al.*, 2019)

وبالنسبة للتوصيف الشكلي للفطر، الأولي والثانوي فقد تطابق توصيف الأبواغ والحوامل الكونيدية مع تصنيف كل من Rozlianah and Sariah (2006) و Zidan (2020) حيث وُجِد صعوبة في التمييز بين النوعيين ولكن تم تمييزهما عن طريق الحوامل الكونيدية فهي قصيرة عند *F. oxysporum* وطويلة عند *F. solani* (Leslie and Summerell,2006). وقد أظهرت نتائج البحث تشابهاً كبيراً في أقطار مستعمرات العزلات المدروسة وهذا يتوافق مع Booth (1971) الذي حدد أن النمو يكون سريعاً عندما يتراوح قطر المستعمرات الفطرية بين 7 – 10 سم، كما تشابهت ألوان المستعمرات والأصبغة التي ينتجها كل من الفطرين المدروسين مع ما توصل إليه كل من Luigi Ciampi وآخرون (2009) و Ismail وآخرون. (2015).

بالإضافة إلى تباين العزلات شكلياً، فقد تفوقت العزلتين FU7 للنوع *F. oxysporum* و FU6 للنوع *F. solani* على باقي العزلات في الشراسة كما هو موضح في الجدولين (6) و (7) وهذا يتفق مع كل من Akbar وآخرون (2018) و Bahlolzada وآخرون (2020) الذين أظهروا وجود تباين في القدرة الإمراضية لعزلات مختلفة من فطر *Fusarium* sp. ، وربما يعود هذا التباين إلى الاختلافات في المادة الوراثية لعزلات الفطر فوزاريوم (Merjan and Al-Janabi,2015) أو لأن الفطر يملك ثلاثة سلالات فيزيولوجية تحمل مورثات عدم الشراسة: *avr1* و*avr2* و*avr3*، والتي تتعرف عليها جينات المقاومة المقابلة في البندورة وبهذا تحفز الاستجابة الدفاعية للنبات ضد الممرضات (Rep *et al*., 2004; Houterman *et al*., 2009).

أدت المعاملة بفوزاريوم البندورة إلى انخفاض تدريجي في طول النبات المعامل بالفطر الممرض مع ازدياد فترة الإصابة مقارنة بالشاهد السليم، وانخفاض في الوزن الجاف للمجموع الخضري والذي قد يعود إلى زيادة معدل التنفس وتدهور الغشاء الخلوي (Orcutt & Nilsen 2000). أو بسبب السموم التي ينتجها فوزاريوم، والتي تؤثر على امتصاص البوتاسيوم وعلى وظيفة الثغور التنفسية وبالتالي عدم انضباط عملية النتح، وفقدان مفرط للماء مؤدياً إلى ذبول النباتات (Aducci *et al.,* 1997).

كما أظهرت النتائج أن المعاملة بفوزاريوم البندورة أدت إلى انخفاض في الوزن الجاف لجذور نباتات البندورة، وقد يكون هذا مرتبطاً بتراكم وتأثير الفينولات الناتجة عن تحلل جدار الخلية (اللجنين) بشكل رئيسي (Steijl *et al.,* 1999).

توضح النتائج أنه من أصل 21 صنف كان هناك صنفين من البندورة مقاومة للإصابة بكلا نوعي ذبول فوزاريوم المدروس، وأصل بري واحد مقاوم لـ *F. solani* وأصلين بريين مقاومين للنوع *F. oxysporum* اعتماداً على مؤشر شدة المرض (%) والسلم المعتمد من قبل Silme and Cagirgan،(2010) والذي يعتمد على نسبة الإصابة (%)، وهذا يتوافق مع كل من Sagitov وآخرون (2010)، Akaeze and Modupe (2017) و Huang and Lindhout (1997). اما الأصناف التي أعطت مستويات مختلفة من القابلية للإصابة تجاه العزلتين ربما يعود ذلك إلى وجود استجابات أليلية أو جينية متعددة بشأن آلية مقاومة نبات البندورة لمسبب ذبول

فوزاريوم (Saxena and Cramer,2009). أو قد يعزى ذلك لعدم امتلاك الأصناف التجارية للبندورة صفة المقاومة لسلالة فوزاريوم الشرسة، السلالة 3 حيث تهاجم هذه السلالة أصناف البندورة بمواقع المقاومة *i* و*2-i*، وهذا يتوافق مع Hirano and Arie (2006) الذي أكد في دراسته على وجود صفة المقاومة للسلالة 1 و2 في النوع *Lycopersicon peruvianum*، وكذلك توافقت مع كل من McGrath and Bhrs (2005) وReis وآخرون (2004) في وُجود صفة المقاومة للسلالة 3 في النوع البري *Lycopersicon pennellii*، كما يعزى قابلية الهجن للإصابة بذبول فوزاريوم إلى النمو الخضري الكثيف للهجين حيث تعد الهجن ذات النمو الخضري القوي والسريع أكثر قابلية للإصابة من الأصناف بطيئة النمو وهذا ما أشار إليه Alkhatib وآخرون (2012) و El-Khallal (2007).

اوضحت النتائج وجود ست عزلات بكتيرية (A12, B22, C33, F63, I91, J02) معزولة من جذور البندورة السليمة المزروعة في حقول تحوي نباتات بندورة مصابة بذبول فوزاريوم ، وعزلة واحدة (K11) معزولة من التربة المحيطة بجذور البندورة، وعزلة واحدة (RIZN) معزولة من العقد الجذرية لجذور النفل الارجواني، والتي تم تعريفها بناءً على نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية حيث تنتمي العزلات A12, B22, C33, F63 للنوع *Pseudomonas fluorescens* والعزلات I91, J02, K11, RIZN تنتمي للنوع *Bacillus cereus* وهذا يتوافق مع Mohammed وآخرون (2019) والتي أثبتت قدرتها التضادية تجاه الفطر المسبب لذبول فوزاريوم مخبرياً. حيث أظهرت النتائج أن هذه العزلات البكتيرية أعطت أكبر مسافة تضاد ومتوسط نسبة تثبيط (%) لنمو مسببات ذبول فوزاريوم مخبرياً في تجربة التضاد الأولى تجاه الفطر *F.solani* تنتمي للنوع *Bacillus cereus* وهذا يتوافق مع Ajilogba وآخرون(2013). أما العزلات التي أظهرت تضاد للفطر *F.oxysporum* مخبرياً لم يكن بينها فروق معنوية ولكن تفوقت العزلة التي تنتمي للنوع *Bacillus cereus* أيضاً وهذا يوافق inam-ul-Haq وآخرون (2019) الذي عزل بكتيريا المحيط الجذري لنباتي الحمص والبطاطا، وبينت نتائجهم تفوق عزلة تابعة للنوع *Pseudomonas fluorescens* على عزلة تابعة للجنس *Basillus* في تثبيط نمو *F. oxysporum*

مخبرياً. كما توافقت مع Shanmuga Priya وآخرون (2021) الذي درس قدرة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في تثبيط نمو المشيجة الفطرية لـ*F.oxysporum* .

أدى استخدام الراشح البكتيري في مكافحة مسببات ذبول فوزاريوم، إلى تفوق العزلات التابعة للنوع *Bacillus cereus* في نسبة تثبيط نمو الفطر، وهذا يتوافق مع Ben Abdallah وآخرون (2015) والتي وضحت أن نواتج الاستقلاب التي تنتجها *Bacillus* spp. هي التي أحدثت التثبيط للنمو الفطري. أما تأثير العزلات البكتيرية التابعة للنوع *Pseudomonas fluorescens* فهو يتوافق مع Harshita وآخرون(2012) وقد يعزى ذلك إلى قدرتها على انتاج السيدروفور (Akko¨pru¨ and Demir,2005) أو المنافسة على المغذيات الموجودة في الوسط (Mohammed *et al.*,2019) أو لقدرتها على إنتاج إنزيم البروتياز الذي يحطم جدار الخلية الفطرية (Ahamadzadah *et al.*,2009) او لمنتجات البكتيريا الموجودة في الراشح مثل zwittermicin و2,4-diacetyl-phloroglucinol (Zape *et al.*,2014).

أظهرت النباتات المعاملة بـ *Pseudomonas fluorescens* تأخر في ظهور الأعراض ومعدل إصابة منخفض بذبول فوزاريوم البندورة *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) على النبات، كما زادت المعاملة بهذه البكتيريا طول النبات والوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري مقارنة بالشاهد السليم، والذي يمكن أن يعزى إلى قدرة البكتيريا على تحسين التغذية المعدنية للنبات وامتصاص المياه (Choudhary and Johri, 2009) او لقدرة البكتيريا *Pseudomonas* على انتاج السيدروفور (Ramamoorthy *et al.*, 2002)، وقد تماثلت النتائج مع Boukerma وآخرون (2017)، وAkkopru and Demir (2005). وقد يعود السبب في تثبيط البكتيريا للذبول في نبات البندورة إلى ان البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* ذات استعمار داخلي لجذور النبات endophytic bacteria مما يوفر حماية أعلى للنبات من الممرضات (Hardoim *et al.*, 2008)، بالإضافة إلى تقوية جدر الخلايا مما يحد من غزو مسببات الأمراض لأنسجة النبات (Benhamou et al. 2000). او من خلال انتاجها للأنزيمات المحللة لجدار خلايا الممرض مثل β-1,3-glucanase و-β

1,4-glucanases والليباز (Denton, 2007). او من خلال تحريض المقاومة الجهازية المحرضة للنبات (Verhagen *et al.,* 2010)

أظهرت النتائج أن المعاملات المختلفة ببكتيريا *Bacillus cereus* ، أدت إلى انخفاض شدة المرض (%)، وعززت من معايير النمو المدروسة (طول النبات، الوزن الجاف الخضري، والوزن الجاف الجذري) للبندورة، وقد يعود السبب إلى أن تطبيق *Bacillus cereus* أو منتجاتها الثانوية على النباتات، تؤدي إلى مكافحة المرض (Gardener, 2004) ويمكن أن تؤثر أيضاً على الميكروفلورا الموجودة في الريزوسفير أو في منطقة انتشار الجذور، مما يوفر بيئة معادية لمسببات الأمراض، أو من خلال تنشيط استجابات دفاع المضيف (Garcia *et al.*, 2012؛ Yamamoto *et al.*, 2015) او من خلال النشاط الإنزيمي Cellulolytic and Proteolytic activity للبكتيريا *B. cereus* (Rocha *et al.*,2017). كما أن أنواع الجنس *Bacillus* تسبب استعماراً سريعاً لأنسجة نبات البندورة من أجل إحداث مقاومة جهازية ضد *F. oxysporum* (Kloepper *et al.* 2004). أو قد يعزى ذلك إلى قدرة أنواع *Bacillus* spp في التأثير على تغذية النبات وامتصاص العناصر الغذائية مثل اتاحة النيتروجين وإذابة الفوسفور (Glick, 1995). أو لارتباط عديدات السكريات الخارجية (EPS) التي تنتجها *Bacillus* spp. بأيونات الصوديوم مما يقلل من تركيزه ويساعد النبات على النمو (Ashraf, 2004) وهذا يتفق مع Ajilogba وآخرون(2013) وSchmledeknecht وآخرون (2001) وRamírez وآخرون (2021)

وPazarlar وآخرون (2022) الذي وضح أن بكتيريا *Bacillus cereus* قامت بحماية نبات البندورة من فطر الذبول *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* عن طريق تحريض المقاومة الجهازية المستحثة.

أظهر المبيد نوفوتريت ذو الأساس الحيوي (يحتوي البكتيريا *Bacillus amyloliquefaciens* FD777) قدرة عالية في خفض شدة الإصابة بكلا النوعين الفطريين *F. oxysporum* و *F. solani*، ويعزى السبب إلى انتاج البكتيريا مواد الاستقلاب الثانوية المضادة للفطريات (Niazi *et al.*, 2014) وإنتاج الانزيمات مثل الكيتيناز (Chen *et al.*, 2009) وهذه الافرازات تساعد في مكافحة امراض النبات(Berendsen *et al.,* 2016)

بالإضافة إلى قدرة البكتيريا في تحريض المقاومة الجهازية المستحثة (Khan *et al.*, 2015)، وهذا يتفق مع Gowtham وآخرون (2016).

كما أظهرت النباتات المعاملة بالبكتيريا زيادة في مؤشرات النمو المدروسة، وهذا يتوافق مع Shahzad وآخرون (2017)، حيث يمكن أن يعزى ذلك إلى قدرة البكتيريا على إنتاج حمض الإندول الخلي واتاحة الفوسفور (Gowtham *et al.*,2016) وقدرة البكتيريا على إنتاج الجبرلينات والاحماض العضوية (Shahzad *et al.*,2016)

أظهر المبيد الكيميائي الفطري بلتانول الذي تم تطبيقه على التربة فعالية في مكافحة *F. solani* أكثر من *F. oxysporum* وهذا يتفق مع Mannai وآخرون (2018) وMatar (2012) الذي قام بدراسة فعالية بعض مبيدات الفطريات الكيميائية في مكافحة ذبول فوزاريوم البندورة وتبين أن بلتانول هو أفضل المبيدات الكيميائية في مكافحة ذبول فوزاريوم، ويمكن أن يعود تأثير بلتانول إلى أن هذا المركب يعمل عن طريق جعل المعادن الثقيلة غير متوفرة للسموم التي تنتجها مسببات الأمراض (Block,1959; Subramaniak,1956).

تعتمد القدرة الوقائية للفطر *Trichoderma harzianum* على الوقت فكانت نسبة الإصابة مرتفعة (50%) عند إحداث العدوى بفطر الذبول *F. oxysporum* بعد أسبوع واحد من معاملة النباتات بالفطر تريكوديرما ويمكن ان يعزى ذلك إلى فشل تريكوديرما في التأسيس جيداً قبل ادخال العامل الممرض مما يجعله غير قادر على التغلب على التأثير المثبط لفوزاريوم (Salami *et al.*,2018) وللشراسة العالية لمسبب المرض *F. oxysporum* (70%) وبالمقابل كانت شراسة المسبب *F. solani* منخفضة (33.33%) لذلك خفض الفطر تريكوديرما من شدة الإصابة بالفطر *F. solani* (6.67%) قد يعود ذلك إلى التأسيس المبكر لفطر تريكوديرما وبالتالي الحد من مدى الضرر الذي يسببه العامل الممرض، أو إلى الآليات التي يتبعها فطر تريكوديرما في المكافحة وهي التطفل المباشر وذلك بالتفاف الخيوط الفطرية لفطر تريكوديرما حول خيوط الفطر الممرض (Howell,2003)، أو قد يعود إلى قدرته على إفراز المضادات الحيوية وبعض الأنزيمات (chitinases وGlucanases) التي تقوم بتكسير السكريات المتعددة (chitin، glucans) المسؤولة عن صلابة جدار الخلية وبالتالي تحطيم الجدر الخلوية للفطر

الممرض (Metcalf and Wilson,2001)، أو تحريض آلية الدفاع الجهازية بتأثير تريكوديرما على التعبير عن مسارات حمض الياسمين JA وحمض الصفصاف SA والإيثيلين ويساعد النبات على انتاج الفيتوأليكسينات (Salas-Marina *et al.,* 2011) وتماثلت هذه النتائج مع Abeysinghe (2007).

توافقت النتائج مع ما توصل له Gupta وآخرون (2006) على الحمص، وWindham وآخرون (1986) على التبغ والبندورة وHibar وآخرون(2005) وKumar (2019) في قدرة فطر *Trichoderma* على تحفيز مؤشرات نمو نبات البندورة المدروسة، والذي أدى إلى نمو أفضل وحجم نبات أكبر وكان ذلك على مستوى المجموع الخضري والمجموع الجذري، وقد يعود التأثير لقدرة فطر تريكوديرما على إنتاج حمض الإندول الخلي IAA الذي يحفز نمو النبات (Gravel *et al.*, 2007) او بسبب زيادة كمية منظمات النمو مثل الأكسينات والسيتوكينين والجبريلين التي تترافق مع زيادة نمو النبات (Cai *et al.*, 2013).

انخفضت شدة المرض بـ *F. solani* عند معاملة نبات البندورة بالميكوريزا الحويصلية VAM مقارنة بالشاهد المعدى ولكن كان للفطر تريكوديرما تأثير أكبر في خفض شدة المرض وهذا يتفق مع Muhanna وآخرون (2016) وقد يعود السبب لقلة كمية الممرض بسبب استعمار الميكوريزا للجذور والتغير في شكل الجذر في منطقة الاستعمار الميكوريزي ومنافسة فطر الذبول على المكان والغذاء (Hassan Dar et al.,1997) او من خلال تحسين تغذية النبات بالفوسفور(Akkopru and Demir,2005) وبالمقابل فان الميكوريزا لم يكن لها دور في تثبيط الإصابة بالفطر *F. oxysporum* وقد يعزى ذلك إلى فشل الميكوريزا في استعمار الجذور قبل حدوث العدوى بالفطر الممرض وهذا يدل على أن الإصابة بفطر *F. oxysporum* تؤثر بشكل ملحوظ على استعمار VAM لجذور البندورة هذا لأن خيوط الفوزاريوم قد تسبب عدم انتظام استعمار الميكوريزا للجذور، وربما ينتج ذلك بسبب تراكم الفينولات في الخلية النباتية المضيفة وإنتاج الانزيمات المحللة مثل الكيتيناز (Hao *et al.,* 2005).

كما أدت المعاملة بفطر الميكوريزا الشجرية الحويصلية (VAM) إلى زيادة نمو المجموع الخضري والجذري للبندورة المصابة وتشير هذه النتائج أن الميكوريزا تزيد تحمل النبات للإصابة بفطر الذبول من خلال تعويض الفقد في الكتلة الحيوية للجذر وهذا يمثل طريقة غير مباشرة في المكافحة الحيوية من خلال الحفاظ على وظائف الجذر

إما من خلال هيفات الميكوريزا التي تتصل بالجذر وتزيد من سطح الامتصاص أو من خلال تغليف الجذر وتشكيل حاجز للإصابة (Morgan *et al.,* 2005)

تم إعداد اللقاح الميكوريزي باستخدام نبات الذرة فوفقًا لـ Gao وآخرون (2014) فطر الميكوريزا المتعايش مع نباتات الذرة يحفز أيضاً استعمار الميكوريزا لجذور البندورة لذلك يمكن استخدام الذرة في تجارب إعداد اللقاح الميكوريزي كما بلغ متوسط عدد الأبواغ في اللقاح الميكوريزي 84 بوغ / 100 غ لقاح وهذا يتفق مع Khrieba وآخرون (2016) حيث أُستخدمت فيه نباتات الذرة لتحضير اللقاح الميكوريزي. كما تراوحت نسبة الاستعمار لجذور نبات الذرة بين 30% و78% وهذا يتفق مع Almagrabi and Abdelmoneim(2012) حيث يتعلق التعايش الميكوريزي بطبيعة جذور النبات العائل الشكلية والفيزيولوجية والشروط البيئية في التربة (Orats,2010)

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات Conclusions

1. اتضح نتيجة العزل ان مسبب الذبول الوعائي على البندورة في الزراعة المحمية في الساحل السوري هو النوع *Fusarium oxysporum* ومسبب تقرح وتعفن جذر وتاج وعنق البندورة هو النوع *Fusarium solani*.
2. لوحظ وجود تباينات مورفولوجية كبيرة بين العزلات من حيث مظهر المستعمرة والصبغة التي تنتجها في وسط الزرع بالإضافة للتباين في الإمراضية، وهذا قد يفسر صعوبة التصنيف، وكانت هذه الاختلافات مرتبطة إلى حد ما بالمنطقة الجغرافية التي اخذت منها العزلات.
3. لوحظ وجود اختلافات معنوية في قابلية الأصناف والهجن والأصول البرية للبندورة للإصابة بذبول فوزاريوم.
4. أمكن الحصول على ست عزلات بكتيرية فقط من أصل 8 ذات تأثير مضاد تجاه الفطر *F.oxysporum*، بينما ثبطت العزلات الثمانية الفطر *F.solani* وهذا يشير إلى التباين في قدرة العزلات البكتيرية التضادية القوية على منع نمو أنواع فطرية مختلفة.
5. اختلفت نتيجة التضاد في المخبر *in vitro* عن التضاد في النبات *in planta* للعزلات البكتيرية ضد النوعين *F.oxysporum* و*F.solani* وهذا يعني ان الأنشطة المضادة للفطريات في المخبر لا ترتبط دائماً بتقليل الإصابة على النبات.
6. أعطى النوعان البكتيريان *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus cereus* كفاءة عالية في تثبيط ذبول فوزاريوم البندورة بنوعيه مخبرياً وحقلياً كما أحدثا زيادة في مؤشرات النمو المدروسة.
7. تبين أن تطبيق العزلات البكتيرية المحلية المكتشفة، أعطى كفاءة أفضل في تثبيط نمو ذبول فوزاريوم البندورة بالمقارنة مع المبيدات التجارية المدروسة.
8. أدت بعض المعاملات الى زيادة الوزن الجاف للجذور والمجموع الخضري لنبات البندورة عند تطبيقها، مما يشير إلى أنها نشطت التمثيل الغذائي وليس مجرد زيادة في امتصاص الماء.

9. يعزى تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط نمو مشيجة فطر فوزاريوم في الزجاج إلى نواتج الاستقلاب التي تنتجها البكتيريا في الوسط.
10. أثر المبيد الكيميائي بلتانول في تثبيط الإصابة بـ *F.solani* أكثر من *F.oxysporum*. وكان للمبيد الحيوي نوفوتريت قدرة على خفض شدة الإصابة بكلا النوعين المدروسين من جنس فوزاريوم.
11. تباين تأثير الفطر *Trichoderma harzianum* والميكوريزا الحويصلية VAM باختلاف العزلة الفطرية الممرضة.

التوصيات Recommendations

1. يقترح استخدام أصول البندورة البرية التي اثبتت اختباراتنا انها مقاومة للإصابة بذبول فوزاريوم (Multifort F1 و4–TD) كأصل جذري لتطعيم البندورة، بالإضافة إلى زراعة الاصناف والهجن التي ثبتت مقاومتها (بلحي شوكولا ومجدلينا) في الإدارة المتكاملة لمرض ذبول فوزاريوم.
2. تطوير مستحضرات من العزلات البكتيرية المحلية *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus cereus* المعزولة من المحيط الجذري للنبات والتي أثبتت قدرتها في مكافحة ذبول فوزاريوم على النبات كعامل مكافحة حيوية ضد فطر ذبول فوزاريوم وكبديل للمبيدات المستخدمة في عملية المكافحة. من خلال دراسة الظروف المثلى للنمو والإنتاج الكمي والتركيز الأمثل للبكتيرية المدروسة
3. التحقق من آلية تأثير العزلات البكتيرية المعزولة من المحيط الجذري والتي أثبتت قدرتها في تثبيط ذبول فوزاريوم البندورة في الزجاج، في تثبيط أمراض فطرية أخرى تصيب النباتات.

الفصل السادس

المراجع

References

المراجع العربية

1. الجنابي، حيدر، جواد، كاظم، الدوغجي، عصام، حسين، علي والجابري، ونر، مهدي، نعمة(2015) تأثير مستخلصات بذور اليانسون في نمو الفطر *Fusarium solani* ومقارنة نموه مع نمو الفطرين *Rhizoctonia solani* و*Alternaria alternata* في المستخلص الزيتي. **مجلة جامعة بابل**. العلوم الصرفة والتطبيقية 1(23).411-425.
2. الشبلي، عبد المؤمن، حسن. (2011). **دراسة بعض طرائق مكافحة مرض ذبول الفيوزاريوم *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* على البندورة، وتقييم حساسية بعض الأصناف للإصابة**.أطروحة ماجستير-كلية الزراعة-جامعة دمشق.ص:82
3. الشكري، مهدي، مجيد.(1991) **أساسيات الفطريات وأمراضها النباتية**. جامعة بغداد.
4. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية**. (2020) وازرة الزراعة والإصلاح الزراعي. مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء، دمشق، الجمهورية العربية السورية.
5. الناصر، محمود، العظمة، فواز وأبو غرة، محمود. (2016). تأثير عزلات الأجناس *Pseudomonas*، *Proteus* و*Trichoderma* في مكافحة ذبول الحمص *Fusarium oxysporum f. sp. Ciceris* في البيت الزجاجي والحقل. **مجلة جامعة البعث**.38 (9).59-83
6. خفتة، عبد الرحمن. (2019). الدور التعاضدي لمرض ذبول الفيوزاريوم والنيماتودا على بعض هجن البندورة في الساحل السوري وإدارتهم المتكاملة. **المجلة السورية للبحوث الزراعية**. 6 (1): 349-360
7. رزق، أنطون، بشرى. (2014) **أثر العوامل اللاإحيائية وفطر الميكوريزا على نمو فطر الفوزاريوم *Fusarium oxysporum* على البندورة في الزراعة المحمية**. أطروحة ماجستير، كلية الزراعة، قسم وقاية النبات، جامعة تشرين

8. عزام، فراس، أبو غرة، محمود والمملوك، عمر، فاروق. (2006). عزل بكتيريا من جذور بعض النباتات والأجسام الحجرية والتربة *Sclerotinia sclerotiorum* ذات تأثير مضاد في الفطر المسبب لمرض عفن سكليروتينيا. **مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية**.22 (2): 257-275

9. غنام، محبة، النحلاوي، عدنان وخباز، صلاح الدين. (2014). دراسة ظاهرة التضاد ما بين بكتيريا المحيط الجذري (PGPR) وفطر *Fusarium oxysporum* f.sp*. lentis Vasud & Srin* المسبب لمرض ذبول العدس الوعائي في ظروف المختبر.**مجلة وقاية النبات العربية.** .32(3).246-253

10. مهنا، أحمد، حمودي، عمر، مفلح، ماجدة، وبرهوم، همام. (2019). التباين الوراثي بين عزلات من فطور *Fusarium spp.* جمعت من نباتات الفصيلة الباذنجانية في سورية مع التركيز على النوع *F. oxysporum* على البندورة/الطماطم. **مجلة وقاية النبات العربية**، 37 (4):293 – 302

11. نفاع، وليد. (2008). **أمراض النبات الفطرية**. منشورات جامعة دمشق، كلية الهندسة الزراعية الثانية – فرع السويداء. ص 416.

12. وير، جورج. (2003) **مبيدات الآفات**، ترجمة صالح بن عبد الله الدوسري، حمدي إبراهيم حسن وعلي محمد السحيباني. منشورات جامعة الملك سعود. الرياض. ص: 623

المراجع الأجنبية

1. Abdel-Fattah, G.M., El-Haddadb, S.A., Hafezc, E.E., Rashadd Y.M.(2011) Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi**. Microbiological Research**.166, 268-281
2. Abdel-Monaim, M.F. (2012). Induced Systemic Resistance in Tomato Plants Against Fusarium Wilt Disease. **International Resource Journal of Microbiology**, 3(1), 14-23.
3. Abedi-Tizaki, M., Sabbagh, S.K. (2012) Morphological and molecular identification of *Fusarium* head blight isolates from wheat in north of Iran. **Australian Journal of Crop Science**. 6(9): 1356-1361.
4. Abeysinghe, S. (2007) Biological control of *Fusarium solani*. **Ruhuna Journal of Science.** 2. pp. 82-88.
5. Adisa, I.O., Pullagurala, V.L., Rawat, S., Hernandez-Viezcas, J.A., Dimkpa, C., Elmer, W.H., *et al*.(2018) Role of cerium compounds in

Fusarium wilt suppression and growth enhancement in tomato (*Solanum lycopersicum*).**Journal of agricultural and food chemistry**. 66(24). 5959–5970.

6. Aducci, P., Ballio, A. and Marra, M. (1997). **Phytotoxins as molecular signals. In: Signal transduction in plants**. Aducci, P. (ed.), pp: 83-105. Birkhauser Verlag, Basel.
7. Agrios, G.N. (2005). **Plant Pathology 5th Ed**. Academic press Inc. New York. p 922
8. Ahamadzadeh, M., Sharifi Tehrani, A. (2009) Evalution of fluoresence *Pseudomonas* for plant growth promotion, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* on common bean, and biocontrol potential. **Biol Control**. (48). 101-107.
9. Ajigbola, F.C. and Babalola, O.O. (2013a). Integrated Management Strategies for Tomato Fusarium Wilt. **Biocontrol Sciences**. 18(3), 117-127
10. Ajigbola, F.C., Babalola, O.O. and Ahmad, A. (2013b) Antagonistic Effects of *Bacillus* Species in Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. **Ethno Med**, 7(3), 205-216
11. Akaeze, O. and Modupe, A.A. (2017) Fusarium wilt disease of tomato: Screening for resistance and *in-vitro* evaluation of botanicals for control; the Nigeria case. **J Microbial Biotech Food Sci.** 7(1), 32-36
12. Akbar, A., Hussain, S., Ullah, K., Fahim, M. and Ali, GS. (2018) Detection, virulence and genetic diversity of *Fusarium* species infecting tomato in Northern Pakistan. **PLoS ONE**. 13(9),1-21 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203613
13. AKKopru, A. and S. Demir, (2005). Biological control of *Fusarium* wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* by AMF *Glomus interaradices* and some rhizobacteria. **J. Phytopathol**., 153: 544-550
14. Al-ani, R. A., Adhab, M. A., Hamad, S. A., & Diwan, S. N. (2011). Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), identification, virus vector relationship, strains characterization and a suggestion for its control with plant extracts in Iraq. **African Journal of Agricultural Research**, 6(22), 5149-5155.
15. Alexandrov, Y. (2005). Mode of action of essential oil components of Tagetes erecta against bacterial wilt of tomatoes. **International Research Journal of Microbiology**, 2, 365-369.
16. Al-Khatib, M. T. (2004). **Determination and Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Races in Jordan**. Ph.D. Thesis. University of Jordan. Amman. Jordan.P.251-256
17. AL-Khatib, M., Brake, M., Qaryouti, M., Alhussaen, K. and Migdadi, H. (2012). Response of Jordanian Tomato Land Races to *Fusarium oxysporum F. sp.lycopersici*. **Asian Journal of Plant Pathology**. 6(3), 75-80.
18. Almagrabi, O.A., and T.S. Abdelmoneim. (2012). Using of arbuscular mycorrhizal fungi to reduce the deficiency effect of phosphorous

fertilization on Maize plants (*Zea mays* L.). **Life Science Journal**, 4: 1684 -1694.

19. Alsrtom, s. (2001). Characteristics of bacteria from oilseed rape in relation of their biocontrol activity against *Verticillium dahliae*. **J.Phytopathol**., 149:57-64
20. Alsudani, A. A., & Raheem Lateef Al-Awsi, G. (2020). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. **Pakistan journal of biological sciences** .23(11), 1456–1461. https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1456.1461
21. Amini, J. and Sidovich, D.F. (2010). The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* associated with Fusarium wilt of tomato. **Journal of Plant Protection Research**. 50 (2), 175
22. Ashraf M (2004) Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. **Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plant** 199(5):361–376
23. Babalola, O. O.(2010a) Pectinolytic and cellulolytic enzymes enhance *Fusarium compactum* virulence on tubercles infection of Egyptian broomrape**. Int. J. Microbiol**. Article ID 273264, 7 pages doi:10.1155/2010/273264.
24. Babalola, O. O.(2010b) Improved mycoherbicidal activity of *Fusarium arthrosporioides*. **Afr J. Microbiol. Res**., 4, 1659-1662.
25. Babalola, O. O. (2010c) Exogenous cellulase contributes to mycoherbicidal activity of *Fusarium arthrosporioides* on *Orobanche aegyptiaca.* **Int. J. Agron**. Article ID 96325, 4 pages doi:10.1155/2010/963259.
26. Babalola, O. O. (2010d) Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnol. Lett**. 32, 1559-1570.
27. Babalola, O.O., Glick, B.R. (2012). Indigenous African agriculture and plant associated microbes: current practice and future transgenic prospects. **Sci Res Essays**, 7: 24312439
28. Babychan, M. and Simon, S. (2017) Efficacy of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.* (FOL) infecting pre-and post-seedling of tomato. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 6(4): 616-619
29. Bahlolzada, H., Saremi, H., Fallahi, M. and Javan-Nikkhah, M. (2020) Identification of main pathogenic *Fusarium* species for biological control of poppy plants in Afghanistan. **Mycologia Iranica**. 7(1), 125 – 134
30. Bailey, W. R., Scott, E, G., (1974). **Diagnostic microbiology**, 4th ed. Mosby, St. Louis, MO.
31. Bakker, A. W., and Schippers, B. (1987) Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas sp* . mediated plant growth stimulation. **Soil Biol. Biochem**. 19, 451-457.

32. Barnett, H. L. and Barry B. H. (1987). **Illustrated Genera of Imperfect Fungi.** Fourth Edition. New York. 218pp
33. Barra, P. J., Inostroza, N. G., Acuña, J. J., Mora, M. L., Crowley, D. E., and Jorquera, M. A. (2016). Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress. **Appl. Soil Ecol.** 102, 80–91. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.02.014
34. Barry AL, Feeney KL.(1967) Two quick methods for Voges-Proskauer test. **Appl Microbiol.** 15(5):1138-41. doi: 10.1128/am.15.5.1138-1141.1967. PMID: 4865027; PMCID: PMC547154.
35. Bawa, I. (2016) Management strategies of Fusarium wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (Sacc.): A review. **International Journal of Advanced Academic Research** 2(5), 32-42.
36. Ben Abdallah, D., Frikha-Gargouri, O.and Tounsi, S. (2015) *Bacillus amyloliquefaciens* strain 32a as a source of lipopeptides for biocontrol of *Agrobacterium tumefaciens* strains**. J Appl Microbiol** 119(1):196–207
37. Benhamou, N., Gagne, S., Quere, D.L.and Dehbi, L. (2000): Bacterial mediated induced resistance in cucumber: Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, 90: 45–56.
38. Berendsen, E.M., Koning, R.A., Boekhorst, J., de Jong, A., Kuipers, O.P. and Wells-Bennik, M.H.J. (2016) High-Level Heat Resistance of Spores of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* Results from the Presence of a spoVA Operon in a Tn1546 Transposon. **Front. Microbiol**. 7:1912. (doi:0.3389/fmicb.2016.01912)
39. Bergey, D.H., Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Hitchens, A.P.(1986) **BERGEY´S MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY**. 2 ed. London. Williams and Wilkins, pp. 965–1599.
40. Biju, V.C., Fokkens, L., Houterman, P.M., Rep, M. and Cornelissen, B.J. C. (2017) Multiple Evolutionary Trajectories Have Led to the Emergence of Races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **Applied and Environmental Microbiology**. 83(4), 1-20.
41. Blaskowski, J. (2003). **Species Descriptions and Illustrations**. From http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/Species%20descriptions%20of%20AMF.html
42. Block, S.S.(1959) Getting the most from fungicide tests. **Agr. Food Chern.**7.18-23.
43. Bohn, G. W. and Tucker, C. M. (1939). Immunity to Fusarium wilt in the Tomato. **Science**, 89, 603-4.
44. Bolandnazar,S.,Moghbeli,E.M.,Panahandeh,J. and Arzanlou,M.(2014) Biological Control of Fusarium Wilt in Greenhouse Tomato by Mycorrhizal Fungi and Resistant Rootstock. **Acta Horticulturae**.1041(1041).127-132

45. Booth, C. (1971): **The genus Fusarium**. Commonwealth Mycological Institute, Key, Surrey, England, p237
46. Booth, C. (1984) . **The Fusarium problem : Historical , economic , and taxonomic aspects** pages 1 – 13 in : The Applied Mycology of Fusarium. M.O. Moss and J.E. Smith, eds. Cambridge University Press, Cambridge .
47. Boukerma, L., BenchaBane, M., charif, A., khéLifi, L.(2017) Activity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs) in the Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt . **Plant Protect. Sci** .53(2):78-84
48. Britt, B.F., Kristin, R. (2011). Tomato consumption and health: Emerging benefits. **American Journal of Lifestyle Medicine**. 5 (2): 182–191.
49. Burgess, L.W., Knight, T.E., Tesoriero, L. and Phan, H.T. (2008). Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam, **ACIAR**, Canberra, pp 126-133
50. Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P. and Backhouse, D. (1994) **Laboratory manual for Fusarium research**. Fusarium Research Laboratory, The University of Sydney and The Royal Botanic Gardens: Sydney. Australia. 132 p
51. Cai, G., Gale, L.R., Schneider, R.W., Kristler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., et al., (2013). Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* at a site in California. **Phytopathology**. 93:1014-22.
52. Catanzariti, A. M.; Lim, G. T. and Jones, D. A. (2015). The tomato I-3 gene: a novel gene for resistance to *Fusarium* wilt disease. **New Phytol**. 207(1):106-108. Doi:10.1111/nph.13348
53. Chehri, K.(2016) Molecular identification of pathogenic *Fusarium* species, the causal agents of tomato wilt in western Iran. **Journal of Plant Protection Research**. 56(2):143-148.
54. Chen, X., H. Koumoutsi, A. Scholz, and R. Borriss.(2009).More than anticipated—production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42.**J. Mol. Microbiol. Biotechnol**. 16:14-24
55. Chohan, T.Z., Ahmad, S.(2008) An assessment of tomato production practices in Danna Katchely, Azad Jammu Kashmir. **Pak J Life Soc Sci**. 6:96-102.
56. Choudhary, D. K., and Johri, B. N. (2009) Interactions of *Bacillus* sp. and plants With special reference to induced systemic resistance ISR . **Microbiol. Res**. 164, 493-513
57. Chrisnawati, S., Marlen, L., Nasrun. (2017). Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* antagonist to control fusarium wilt disease on tomato**. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon** 3: 273-277
58. Colwell and Grigorova. (1987). **Methods in microbiology**. current methods for classification and identification of microorganisms. 19 .1-67
59. Crown, S.T. and Gen, J., (1998). Micromethod for the methyl red test. **Microbiol**. 9 p. 101-109.

60. Dela Cruz, T. E. (2012, November). Gelatin Hydrolysis Test Protocol. **Retrieved from American Society for Microbiology**:1-10 http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3776
61. Denton, B. (2007): Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. **Basic Biotechnology**. 3. 1–5.
62. Deshwal, V.K. and Chaubey, A.(2014) Isolation and Characterization of *Rhizobium leguminosarum* from Root nodule of *Pisum sativum* L. **Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)** 2(8) 464-467
63. Di Pietro, A., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J. and Roncero, M.I.G.(2003) *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. **Molecular Plant Pathology**. 4(5).315-340. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00180.x
64. Dimond, A.E., Davis, D., Chapman, R.A., and Stoddard, E.M. (1952). Plant chemotherapy as evaluated by the Fusarium wilt assay on tomato. **The Connecticul Agric.** Exp. St. Bull. 557. 82 pp
65. do Amaral, D. O. J.; de Andrade-Lima, M. M.; Vilela, L. and da Silva, M. V. (2008). Differential gene expression induced by salycilic acid and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* infection in tomato. **Pesq Agrop Bras**. 43(8).1017-1023. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000800010
66. Doolittle, S. p. (1954). The Use of wild *Lycopersicon* species for Tomato Disease Control. **Phytopathology**, 44, 409-14.
67. Drysdale , R.B . and Langcalce , P . (1974) . Response of tomato to infection by *Fusarium oxysporum* f .sp *lycopersici* . **phytopathology** . 68 :422 – 437
68. Dubin,H.J., and Rajaram S.(1982) the CIMMYT'S international approach to breeding disease resistant whaet. **Plant Dis**. 66. 967-971
69. El- Khallal S.M. (2007) Induction and Modulation of Resistance in Tomato Plants Against Fusarium Wilt Disease by Bioagent Fungi (*Arbuscular Mycorrhiza*) And/or Hormonal Elicitors (Jasmonic Acid& Salicylic Acid): 1- Changes in Growth, Some Metabolic Activities and Endogenous Hormones Related to Defence Mechanism.**Australian Journal of Basic and Applied Sciences.** 1(4). 691-705.
70. Facklam, R., Elliott, J, A., (1995). Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive *cocci*, excluding the *streptococci* and *enterococci*. **Clinical Microbiology**. 8(4), p. 479.
71. FAO. (2017). **FAOSTAT**. Food and Agriculture Organization http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC(accessed 21 Sep 2017).
72. Ferraz, H. G. M., Resende, R. S., Silveira, P. R., Andrade, C. C. L., Milagres, E. A., Oliveira, J. R., & Rodrigues, F. D. Á. (2014). Rhizobacteria induces resistance against Fusarium wilt of tomato by increasing the activity of defense enzymes. **Bragantia**, 73, 274-283.

73. Fiddaman, P . J., and Rossall, S. (1995) Selection of bacterial antagonists for the biological control of *Rhizoctonia solani* of oilseed rape （*Brassica napus*). **Plant Pathol**. 44, 695-703
74. Freeman, S., Zveibel, A., Vintal, H. and Maymon, M. (2002). Isolation of non-pathogenic mutants of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* for biological control of Fusarium wilts in Cucurbits. **Phytopathology**. 92:164-168
75. Gao, X., Wu, M., Xu, R., Wang, X. *et al*. (2014) Root interactions in a maize/soybean intercropping system control soybean soil-borne disease, red crown rot. **PLoS ONE** (5): e95031.doi:10.1371/journal.pone.0095031.
76. Garcia-Gutierrez, R.D., Zeriouh, H., Cazorla, F.M., Tores, J.A., de Vicente, A., Perez-Garcia, A. (2012) Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. **Plant and Soil**. 358(1–2):201–212
77. Gardener, B. B. M. (2004) Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp in Agricultural systems. **Phytopathol.**, 94,1252-1258.
78. Gerlach, W., Nirenberg, H. (1982): **The genus Fusarium-A pictorial atlas**. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt Fur Land- und Forstwirtschaft (Berlin-Dahlem) 209: 1-405.
79. Glick, B.R. (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Can J Microbiol** 41(2):109–117
80. Gowtham, H.G., Hariprasad, p., Chandra Nayak, s., Niranjana, S.R.,(2016) Application of rhizobacteria antagonistic to *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* for the management of Fusarium wilt in tomato. **Rhizosphere**.2: 72–74
81. Gravel, V., Antoun, V. and Tweddell, R. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with Pseudomonas putida or Trichoderma atroviride: possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biol Biochem**, 39: 1968– 1977.
82. Gupta, S.B., Thakur, K.S., Tedia, K., Singh, K. (2006). Influence of *Trichoderma viride* on Performance of chickpea in wilt complex area. **Ann. Pl. Protec. Sci**, 14(1):120-124.
83. Gupta, V.P., Bochow, H., Dolej, S., Fischer, I.(2000) Plant growth-promoting *Bacillus subtilis* strain as potential inducer of systemic resistance in tomato against Fusarium wilt. **Z Pflanzenk Pflanzen**. 107(2):145-199. PubMed PMID: WOS:000086890800004.
84. Hadian, S., Rahnam, K., Jamali, S., and Escandari, A. (2011). Comparing New Extract with chemical control on *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incogntia* complex of tomato. **Advances in Environmental Biology**. 5 (8):2052-2057
85. Hannane Abed, Noureddine Rouag, Dahou Mouatassem, Amar Rouabhi (2016) Screening for *Pseudomonas* and *Bacillus* antagonistic rhizobacteria

strains for the biocontrol of Fusarium wilt of chickpea. **Eurasian J Soil Sci.**(3) 182-191

86. Hao, Z., P. Christie, L. Qin, C. Wang and X. Li.(2005). Control of Fusarium wilt of cucumber seedlings by inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus. **J. Plant Nutri**. 28(11): 1961-1974.
87. Hardoim, P.R., van Overbeek, L.S., van Elsas, J.D. (2008) Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends Microbiol**. 16(10):463–471
88. Harrison, D.J. & Burgess, P.G. (1962) Use of rootstock resistance for controlling Fusarium wilt of tomatoes. **Plant Pathol**. 11. 23- 25
89. Harshita, A. S., Khan, J.B., Tripathi U.K., VedRatan, S. T., Abhishek, M., and Ankur, V. (2019) *In vitro* evaluation of systemic fungicides against *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* and their compatibility with bioagents. **J Pharma Phytochem** 8(3):3117-3123
90. Haruna, S.G., Adebitan, S.A., Gurama, A.U. (2012). Field evaluation of compost extracts for suppression of Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici*. **Int J Agr Res**. 2(7).7-17
91. Hassan Dar, G. H., Zargar, M. Y., & Beigh, G. M. (1997). Biocontrol of Fusarium root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris L*.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. **Microbial Ecology**, 34, 74-80.
92. Heil, M., and Bostock, R. M. (2002) Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Ann. Bot**., 89, 503-521.
93. Hibar, K., Daami-remadi, M., Khiareddine, H., EL mahjoub, M. (2005). Effet inhibiteur in vitro et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis.lycopersici*. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**.9 (3), 163–171.
94. Hirano, Y. and Arie, T. (2006) PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* and *radicis- lycopersici* and races of *F. oxysporum f.sp. Lycopersici.* **J.Gen.Plant pathol**. 72. 273-283
95. Houterman, P. M., Ma, L., Van Ooijen, G., De Vroomen, M. J., Cornelissen, B. J. C., Takken, F. L. W. and Rep, M. (2009). The effector protein *Avr2* of the xylem-colonizing fungus *Fusarium oxysporum* activates the tomato resistance protein *I-2* intracellularly. **Plant J**. 58(6):970-978. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03838.x.
96. Howell, H.R., Harman, G.E., Viterbo, A., *et al*(2003) . *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts.**Nature Reviews Microbiology**. 2. 43-56.
97. Huang, C. C. and Lindhout, P. (1997). Screening for resistance in wild *Lycopersicon* species to *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* race 1 and race 2. **Euphytica**. 93. 145-193.

98. Inami, K., Yoshioka-Akiyama, C., Morita, Y., Yamasaki, M., Teraoka, T. y., Tsutomu, A. (2012). A genetic mechanism for emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: inactivation of avirulence gene *Avr1* by transposon insertion. **PLoS One**. 7(8):44101. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044101
99. Isaac, M.R., Leyva-mir, S.G.,Sahagun-castellanos, J., Camara-corria, K.,Tovar-pedraza, J.M. and Rodriguez-perez, J.E. (2018). Occurrence, Identification, and Pathogenicity of *Fusarium spp*.Associated with Tomato Wilt in Mexico. **Not Bot Horti Agrobo**.46(2) 484-493
100. Ismail, M.A., Abdel-Hafez, S.I.I., Hussein, N.A. and Abdel-Hameed, N.A. (2015) **Contributions to the genus *Fusarium* in Egypt with dichotomous keys for identification of species**. TMKARPIŃSKI PUBLISHER .Suchy Las, Poland. Department of Botany and Microbiology, Faculty of Science, Assiut University, Egypt. p 179
101. Jacobsen, B. J., Zidack, N. K., and Larson, B. J. (2004) The Role of *Bacillus*-Based Biological Control Agents in Integrated Pest Management Systems: Plant Diseases. In: Symposium- The Nature and Application of Biocontrol Microbes: *Bacillus* sp. **Phytopathol**. 94. 1272-1275
102. Jetiyanon, K., and Kloepper, J. W. (2002) Mixture of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. **Biol. Control**.,24, 285-291
103. Jones, R.K. (2000). Assessments of Fusarium Head Blight of Wheat and Barley in Response to fungicide Treatment. **Plant Dis**. 84 : 1021 – 1030
104. Juliano, C. da SilvaI, Wagner Bettiol.(2005). Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of Fusarium wilt of tomato. **SciELO Analytics**.30 (4)
105. karthikeyan,B. and Sivasakthivelan,P.(2007) Biofertalizer technology. Department of Agricultural Microbiology. Faculty of Agriculture. Annamalai University,pp40
106. Kaushik, S. K., Tomar, D. S., & Dixit, A. K. (2011). Evaluation of plant-based Non-Timber Forest Products (NTFP's) as potential bioactive drugs in South-western Nigeria. **Journal for Clinical and Medical Research**, 3. 61-66.
107. Kerr, J.R., Taylor, G.W., Rutman, A., Hoiby, N., Cole, P.J., Wilson, R.(1999) Pyocyanin inhibits yeast growth: a role in the prevention of *pulmonary candidiasis*. **J Clin Pathol**. 52: 385–7.
108. Khan, A.L., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Lee, I.J. (2015). Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. **Critical Reviews in Biotechnology.** 35(1):62–74 DOI 10.3109/07388551.2013.800018.
109. Khan, M.R. and Khan, S.M. (2002). Effects of root-dip treatment with certain phosphate solublizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato. **Bioresource Technol**. 85, 213-215

110. Khrieba, I.M.,Ghazal, I.,Azmeh ,F.M.,Choumane, W. and Zangeneh, S.(2013) Isolation and identifying Root – Fungi (Mycorrhiza) symbiotic with tomato in the Syrian coast. **Tishreen University journal for research and scientific studies**- biological science series 35(8) 149-160
111. Khrieba, I.M.,Ghazal, I.,Azmeh, F.M. and Choumane, W.(2016) Effect of Endomycorrhizal inoculum treatment on growth and production parameters in tomato plants . **The Arab Journal For Arid Environment**. 142-151
112. Kimaru, S.K., Waudo, S.W., Monda, E., Seif and A.A., Birgen J.K.,(2004). Effect of Neem Kernel Cake Powder (NKCP) on Fusarium Wilt of Tomato when Used as Soil Amendment. **Journal of Agriculture and Rural development in the Tropics and Subtropics**. 105(1) 63–69
113. King, E. O, M. K. Ward and Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. 44:301-307.
114. King,S.R.,Davis,A.R.,Liu,W. and Levi,a. (2008) Grafting for Disease Resistance. **HortScience**.43(6)1673-1675
115. Klement, A. and R. Goodman (1987). The hypersensitive reaction infection by bacterial plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 5: 17-44.
116. Kloepper, J. W., Ryu, C. M., and Zhang, S. (2004) Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* sp. **Phytopathol**. 94, 1259-66.
117. Kloepper, J.W.(2003) **A Review of Mechanisms for Plant Growth Promotion by PGPR**. 6th International PGPR Workshop, 5–10 October 2003, Calcutta, India.
118. Kumar A. (2019) Management of Fusarium wilt of tomato using *Trichoderma harzianum*. **IJRAR**.6(1).9-16
119. Larkin, P. and Fravel, D.R. (2002). Effects of varying environmental conditions on biological control of Fusarium wilt of tomato by Non-pathogenic *Fusarium spp*. **American Journal of Phytopathology**. USDA—ARS, MD 20705
120. Larkin, R. P., and Fravel, D. R. (1998). Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. **Plant Dis**. 82:1022-1028.
121. Lelliot RA, Billing E, Hayward AC (1966). A determinative scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic *Pseudomonads*. **J. App. Bacteriol**. 29. 70-489.
122. Leslie, J.F., Summerell, B.A. (2006) **The *Fusarium* Laboratory Manual**. Blackwell Publishing. Oxford. 388
123. Lewis, J. (2003).**Tomato notes. Missouri Environment and Garden**. News for Missouri Garden, Yards and Resources. Vol.9 No.8
124. Lugtenberg, B. J. J., and Kamilova, F.(2009) Plant growth promoting rhizobacteria. **Ann. Rev. Microbiol**. 63, 541-556

125. Luigi Ciampi, P., Juan Nissen, M., Elizabeth Venegas, G., Ricardo Fuentes, P., Marcia Costa, L., Renate Schöbitz, T., Eduardo Alvarez, D., and Pilar Alvarado, A. (2009) Identification of two species of *Fusarium* Link that cause wilting of colored callas (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) Cultivated under greenhouse conditions in Chile. **Chilean journal of agricultural research**. 69(4). 516-525
126. Inam-ul-Haq, M., Sajjad H., Tahira N., Shagufta B.، Sohaib I., and Ibrahim Tahir, M. (2019)Overview of Biopesticides in Pakistan. **Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture**, R. Z. Sayyed , M. S. Reddy , Sarjiya Antonius 257-267
127. Malafaia, C. B., Silva, T. D., do Amaral, D. O. J., de Almeida1, C. M. A., da Silva, M. L. R. B., dos Santos, M. T. C. and Silva, M. V. (2013). Evaluation of the resistance and differential induction of chitinases in tomato in response to inoculation with *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. **J Plant Physiol Pathol**. 1(3). 1-6.
128. Mannai, S., Horrigue-Raouani, N. and Boughalleb-M'Hamdi, N.(2018) Effect of Six Fungicides against *Fusarium oxysporum* and *F. solani* Associated with Peach Seedlings Decline in Tunisian Nurseries. **ARRB**, 26(4): 1-11
129. Mardi, D., Janet, B. and Paul, W. (2002). Organic Greenhouse Tomato Production. **Fayetteville**. AR 72702
130. Matar, M. (2012) The effectiveness of some chemical and biological fungicides for controlling Fusarium wilt of Tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.*Lycopersici*. **Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies**, Biological Science Series 34(4)
131. Mathur, S.B. and Kongsdal, O. (2004) **Common Laboratory Seed Healthy Testing Methods for Detecting Fungi**. 2nd Edition, International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf.p.425
132. Mc Grath, D.J. and Bhrs, R.S. (2005) Fusarium wilt resistant Tomato. **Hort.Sci**. 23. 1093-1094
133. McMilan,S. (2007). **Promoting Growth with PGPR**. The Canadian Organic Grower. www.cog.ca. pp32-34
134. Merjan A. and Al-janabi J.K.A. (2015) Identification of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* isolates and evaluate their pathogenicity against differential varieties of tomato plant. **Babylon university jornal**.3(23) 1236-1250
135. Metcalf, D. A., & Wilson, C. R. (2001). The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. **Plant Pathology**, 50(2), 249-257.
136. Mhlongo, M.I., Piater, L.A., Madala, N.E., Labuschagne, N. and Dubery, I.A. (2018) The Chemistry of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Potential for Metabolomics to Reveal Signaling

Related to Defense Priming and Induced Systemic Resistance. **Frontiers in Plant Science**. 9(112):1-17.

137. Mohammed, L.B., Hussein, A.R., Toama, N.F.(2019) Biological control of Fusarium wilt in tomato by endophytic rhizobactria . **Energy Procedia**. 157: 171-179
138. Mohsen L.Y.,Al-Janabi J. K. A., and Jebor M. A.(2016).The effect of some environmental conditions on the growth and activity of the external enzymes for five sp. of *Fusarium*. **Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences**. 24 (3)
139. Monda, E.O. (2002). Biological control of Fusarium wilts of tomato. Botany Department, Kenyatta University, Kenya. **Journal of Tropical Microbiology**, 1:74-78
140. Morgan, J.A., Bending, G.B. and Whilte, P.J. (2005). Biological costs and benefits to plant- microb interaction in the rhizosphere. **J. ExP Bot**. 56(417): 1729-1739.
141. Muhanna, N., Essa, A. S., Manal, T. A., El-Gamal, A. H. and Kamel, S. M. (2016) Efficacy of Free and Formulated Arbuscular mycorrhiza, *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on Controlling Tomato Root Rot Diseases. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**. 26(3), 477-486
142. Mui-Yun, W. (2003). **Soil borne Plant Pathogen** .Class Project. North Carolina State University p.728
143. Murad, N.B.A., Kusai, N.A., Zainudin, N.A.I.M.(2016) Identification and diversity of *Fusarium* species isolated from tomato fruits. **Journal of Plant Protection Research**. 56(3):231-236.
144. Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L. and Pfaller. M.A.(2007) **Manual of Clinical Microbiology**. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.pp2488
145. Nelson, P.E., Toussoum, T.A. and Marasas, W.F.O. (1983): ***Fusarium* species an illustrated manual for identification**. The Pennsylvania State University Press, London.UK. p.193
146. Niazi, A., Manzoor, S. , Asari, S., Bejai, J. , Meijer, J. and Bongcam-Rudloff. E. (2014). Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens subsp. Plantarum* UCMB5113: a rhizobacterium that improves plant growth and stress management. **PLoS One** .9 (8), e104651
147. Nihorimbere,V.,Ongena,M.,Smargiassi,M.,Thonart,P.(2011) Beneficial effect of the rhizobacteria microbial community for Plant growth and health.**Biotechnol.Agron. SOC. Environ**.15 (2),327-556.
148. Orats, I. (2010). Effect of mycorrhiza application on plant growth and nutrient uptake in cucumber production under field conditions. **Spanish Journal of Agricultural Research**. 8. 116 - 122.
149. Orcutt, D.M. and E.T. Nilsen, (2000). Influence of plant phytopathogens on host physiology. In : Orctt, D. M. and E.T. Nilsen (eds), The physiology of

plants under stress. **Soil and Biotic Factors**. pp: 239-236. John Wiley & Sons, Inc. VSA.

150. Otzen, D.E. (2017) Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: same but different? **Biochim et Biophys Acta (BBA)-Biomemb** .1859:639–649
151. Pal, K. K., and Gardener, B. M.(2006) Biological Control of Plant Pathogens. **Plant Health. Instructor**.1-25, DOI: 10.1094/ PHI-A-2006-1117-02.
152. Panthee, D. R. and Chen, F. (2010). Genomics of fungal disease resistance in tomato. **Curr. Genomics**. 11(1).30-39.
153. Pawaar,J.S.and Kakde,U.B.(2012)Study of *Arbuscular mycorrhiza* associated with some important medicinal plants in Suburban Area of Mumbai. **Online International Interdisciplinary Research Journal**. 2(2). 116-127.
154. Pazarlar, S., Madriz-Ordeñana, K. and Thordal-Christensen, H. (2022) *Bacillus cereus* EC9 protects tomato against Fusarium wilt through JA/ET-activated immunity. **Front. Plant Sci**. 13:1090947 https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1090947
155. Paz-Lago, D., Borges, A.A., Gutie ´rrez, A., Borges, A., Cabrera, G., Ramı ´rez, M.A., *et al*. (2000) Tomato-*Fusarium oxysporum* interactions : II. Chitosan and MSB induced resistance against *Fol* in young tomato plants. **Cultivos Tropicales**. 21(4).17-20.
156. Pelias, R., Samia, G., Karkachi, N., Kihal, M. (2022). Antifungal activity of *Bacillus* spp. against *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* and *Ascochyta* sp. **Journal of Plant Protection Research**, 62(3), 247-257. https://doi.org/10.24425/jppr.2022.142131
157. Petatán Sagahón, I., Anducho-Reyes, M.A., Silva-Rojas, H.V., Arana-Cuenca, A., Tellez-Jurado, A., Cárdenas-Álvarez, I.O., Mercado-Flores, Y. (2011) Isolation of bacteria with antifungal activity against the phytopathogenic fungi *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*. **Int J Mol Sci**. 12. 5522–5537
158. Phillips, J.M. and Hayman, D.S.(1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and *vesicular-arbuscular mycorrhizal* fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**. 157-160
159. Pitt, J.I. (2000) Toxigenic fungi: which are important? .**Medical Mycology** .38: 17-22.
160. Pottorf, L. (2006). **Recognizing Tomato Problems**. Colorado State. University co-operative Extension (2) 949.
161. Pozo, M., Cordier, C. , Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., and Barea, J.M. (2002). Locolized versus system effect of arbusular mycorrhizal fungi on defense responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. **J. Exp Bot**. 53. 525-534

162. Pritesh, P. and Subramanian, R.B. (2011). PCR based method for testing Fusarium wilt resistance of Tomato. **African Journal of Basic and Applied Sciences.** 3(5). 222.
PubMed PMID: WOS:000185632500002. PMID: 20569392
163. QUILAMBO, O. A.(2003) The *vesicular-arbuscular mycorrhizal* symbiosis. **African Journal of Biotechnology**. 539-546.
164. Raaijmakers, J.M., de Bruijn, I., Nybroe, O., Ongena, M. (2010) Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS Microbiol Rev**. 34.1037–1062
165. Rahjoo, V., Zad, J., Javan-Nikkhah, M., Mirzadi Gohari, A., Okhovvat, S.M., Bihamta, M.R., Razzaghian, J., and Klemsdal, S.S. (2008). Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran. **Journal of Plant Pathology**. 90 (3).463- 468
166. Rahmoune, B., Morsli, A., Khelifi-Slaoui, M., Khelifi, L., Strueh, A., Erban ,A. *et al*. (2017) Isolation and characterization of three new PGPR and their effects on the growth of *Arabidopsis* and *Datura* plants. **J Plant Interact** 12:1–6
167. Rai, S., Kashyap L.P., Kumar, S., Srivastava, KA., Pramod, R.V.(2016) Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. **Springer Plus**, 5:1939.
168. Ramamoorthy, V., Raguchander, T., & Samiyappan, R. (2002). Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. **Plant and soil**, 239(1), 55-68.
169. Ramírez, V., Martínez, J،. Bustillos-Cristales M.R., Catañeda-Antonio D،. Munive, J.-A. &Baez, A. (2022) *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. **Journal of Applied Microbiolog.**132 .482–470 ، https://doi.org/10.1111/jam.15179
170. **Recycled Organics Unit** (2006). Compost use for pest and disease suppression in NSW. Recycled Organics Unit, internet publication, www.recycledorganics.com
171. Reis, A., Giordano, L. B., López, C. A. and Boiteux, L. S. (2004). Novel sources of multiple resistance to three races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in *Lycopersicon* germplasm. **Crop Breed. Appl. Biotechnol**.4 (4). 495-502.
172. Rep, M., Van Der Does, H.C., Meijer, M., Van Wijk, R., Houterman, P.M., Dekker, H.L., De Koster, C.G. and Cornelissen, B.J.C.(2004) Asmall, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato**. Mol. Microbial**. 53.1373–1383.
173. Robert, R.W. (2005). **Growing tomatoes**. University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences. Bulletin 1271

174. Rocha, F. Y. O. ; Oliveira, C. M. de ; Silva, P. R. A. da ; Melo, L. H. V. de ; Carmo, M. G. F. do ; Baldani, J. I.(2017) Taxonomical and functional characterization of *Bacillus* strains isolated from tomato plants and their biocontrol activity against races 1, 2 and 3 of *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*. **Applied Soil Ecology**. 120. 8–19
175. Rodriguez-Herrera, R., Rooney, W.L., Rosenow D.T. and Frederiksen R.A. (2000): Inheritance of grain mold resistance in grain *sorghum* without a pigmented testa**. *Crop Science***. 40. 1573-1578.
176. Rozlianah, S.F. and Sariah, M. (2006) Characterization of Malaysian isolates of *Fusarium* from tomato and pathogenicity testing. **Research Journal of Microbiology**. 1(3). 266-272
177. Ruoff, K.I. Whiley, R.A. and Beighton, D. (1999). In Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Yolken, R.H. (ed.), **Manual of clinical microbiology**, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C
178. Sagitov, A.O., El-Habbaa, G.M., and El-Fiki, I.A. (2010) Sensitivity of seven tomato cultivars to Fusarium wilt under glasshouse conditions in Kazakhstan. **Egypt.J.phytopathol**. 38. 89-97
179. Salami, O.A., Bankole, A.F., Adepoju, O.P. (2018) Biocontrol Potentials of *Trichoderma Harzianum* and *Glomus Facultative* on *Fusarium Oxysporum* Causing *Fusarium* Wilt Disease of Tomato (*Lycopersicum Esculentum*). **SciFed Journal of Mycology**.1(3).1-11
180. Salas-Marina, M.A., Silva-Flores, M.A., Uresti-Rivera, E.E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A. , Casas-Flores, S. (2011). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growthand enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **Eur. J. Plant Pathol**, 131:15–26.
181. Sally, A.M., Randal, C.R. and Richard, M.R. (2006). **Fusarium Verticillium wilts of Tomato, Potato, Pepper and Egg plant**. The Ohio State University Extension
182. Samaras, A., Efthimiou, K., Roumeliotis, E., Karaoglanidis, G.S.(2018) **Acta Hortic**. DOI 10.17660/ActaHortic.2018.1207.18
183. Sarma, M.V., Saharan, R.K., Prakash, K., Bisaria, A. and Sahai, V. (2009). Application of Fluorescent *Pseudomonads* Inoculant Formulations on *Vigna mungo* through Field Trial. **International Journal of Biological and Life Sciences**. 1:41-47
184. Saxena, A. and Cramer, C. S. (2009). Screening of onion seedlings for resistance against New Mexico isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae***. J. Plant. Pathol**. 91.199–202.
185. Schaafsma, A.W., Nicol, R.W., Savard, M.E., Sinha, R.C., Reid, L.M., Rottinghaus,G. (1998): Analysis of *Fusarium* toxins in maize and wheat using thin layer chromatography. **Mycopathologia** 13. 107- 142.

186. Schmledeknecht, G., Issoufou, I., junge, H., Bochow, H. (2001). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent biological control of diseases on maize and sunflowers. **J Plant Dis Protect**. 108. 500-512.
187. Schollenberger, M., Muller, H.M., Rufle, M., *et al*. (2005) Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. **International Journal of Food Microbiology**, 97(3). 317-326
188. Scott, J. W., Agrama, H. A. and Jones, J. P. (2004). RFLP based analysis of recombination among resistance genes to Fusarium wilt races 1, 2, and 3 in tomato. **J. Am. Soc. Hortic. Sci**. 129(3).394-400
189. Shahzad, R., Waqas, M., Khan, A. L., Asaf, S., Khan, M. A., Kang, S. M., Yun, B. W., & Lee, I. J. (2016). Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*. **Plant physiology and biochemistry** : PPB, 106, 236–243. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.006
190. Shahzad, R., Khan, A.L., Bilal, S., Asaf, S. and Jung-Lee, I. (2017), Plant growth-promoting endophytic bacteria versus pathogenic infections: an example of *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 and *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* in tomato. **PeerJ.** DOI 10.7717/peerj.3107
191. Shahzaman S (2016) **Development of biopesticide for the control of root pathogenic fungi in chickpea using plant growth promoting rhizobacteria. Doctoral dissertation**، Arid Agriculture University, Rawalpindi, Pakistan
192. Shanmuga Priya, D., Eraivan Arutkani Aiyanathan, K., Harish, S. (2019) Efficacy of bacterial biocontrol agents and commercial fungicides against Fusarium wilt of *Chrysanthemum*. **J PharmaPhytochem** 8(3):874-880
193. Sharif, F.A. and Alaeddinoglu, N.G. (1988) A rapid and simple method for staining of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. **Jornal of Industrial Microbiology**. 3. 227-229
194. Sheu, Z.M. and Wang, T.C. (2006). First Report of Race 2 of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, the causal agent of Fusarium wilt on Tomato in Taiwan. **The American Phytopathological Society**. Vol.90, No.111
195. Shields, P. and Cathcart, L. (2011) Motility test medium protocol. **American Society for Microbiology** .1-10
196. Siddiqui, Z.A., (2006). A proteomics perspective on bicontrol and plant defense mechanism. In; PGPR Biocontrol and Biofertilization. **Publisher Springer Netherlands**, pp: 233-255.
197. Silme, R. S. and Cagirgan, M. I. (2010). Screening for resistance to Fusarium wilt in induced mutants and world collection of Sesame under intensive management. **Turkish Journal of Field Crops**. 15(1). 89-93
198. Smith, S.E. and Read, D.J.(2008) **Mycorrhizal Symbioses**. Academic press. London. UK. P.589
199. Song, F. and Goodman, R.M. (2001). Molecular biology of disease resistance in rice. **Physiology and Molecular Plant Pathology**. 59:1-11

200. Srinivas, C., Nirmala, D. D., Narasimha, M. K., Chakrabhavi, D. M., Lakshmeesha, T. R., Bhim, P. S. *et al* (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity. A review. **Saudi J. Biol. Sci**. 26(7):1315-1324. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002.
201. Steijl, H., G.J. Niemanm and J.J. Boon., (1999). Changes in chemical composition related to fungal infection and induced resistance in carnation and radish investigated by pyrolysis mas spectrometry. Physiol. Mol. **Plant Pathol**. 55: 297-311.
202. Stephen, A.F. and Andre, K.G. (2003). ***Fusarium oxysporum***. Department of Plant Pathology, CTAHR University of Hawaii at Manoa, 2A-FUOXY
203. Subramaniak D.(1956) Role of trace element chelation in the Fusarium wilt of carten. **Indian Acad. Sci., Proc. B**.48:302-307.
204. Summerell, B.A., Salleh, B. and Leslie, J.F. (2003): A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant Disease**. 87(2).117–128.
205. Suslow, T. V., Schroth, M. N., and Isaka, M.(1982) Application of a rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. **Phytopathology**. 72: 917 918.
206. Taskeen-Un-Nisa, Wani, A.H., Bhat, M.Y., Pala, S.A., Mir, R.A. (2011). *In vitro* inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum*. **Journal of Biopesticides** 4 (1): 53–56.
207. Tille, P.M.(2014).**Baily and scott's diagnostic microbiology**. thirteen.edition. Mosby, inc.,an affiliate of Elsevier inc.3251 Riverport Lane. st. Louis. Missouri 63043
208. Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., Carvallo, T., González-León, A., Ojeda-Contreras, J., Aguilar-Valenzuela, A., Tiznado-Hernández, M. (2013). A fungal elicitor enhances the resistances of tomato fruit to *Fusarium oxysporum* infection by activating the phenylpropanoid metabolic pathway. **Phytoparasitica**. 41 (2): 133–142.
209. Vakalounakis, D. J., & Fragkiadakis, G. A. (1999). Genetic Diversity of Fusarium oxysporum Isolates from Cucumber: Differentiation by Pathogenicity, Vegetative Compatibility, and RAPD Fingerprinting. **Phytopathology**,89(2),161–168.
210. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. and Boyce, A.N. (2016) Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability". **Molecules**. 21(573):1-17.
211. Verhagen, B.W.M., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Höfte, M‹. Aziz, A. (2010): *Pseudomonas spp.* induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. **Journal of Experimental Botany**, 61: 249-260.
212. Vessey,J.K.,(2003),Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **plant and soil**. 255 (2),571-586.

213. Vethavalli S, Sudha SS (2012) *In vitro* and *in silico* studies on biocontrol agent of bacterial strains against *Fusarium oxysporumf.sp. lycopersici*. **Res JBiotechnol**.3(2):22-31
214. Vierheilig, H., (2004). Regulatory mechanisms during the plant arbuscular mycorrhizal fungus interaction. **Can J Bot**. 82: 1166-1176.
215. Vignesh,K., K.Rajamohan, P.Balabaskar and R.Anandan(2021) *In vitro* efficacy of pgpr *Pseudomonas fluorescens* against Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici***. Plant Archives**. 21(1), pp. 430-436
216. Vries. Y. P. de (2011) ***Bacillus cereus* spore formation, structure, and germination**, Ph.D. thesis. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands – with summary in Frisian and Dutch – 128 p
217. Waiganjo, M.M., Wabule,N.M., Nyongesa, D., Kibaki, J.M., Onyango, I., Webukhulu, S.B. and Muthoka, N.M. (2006). **Tomato production in Kiriyanga District, Kenya**. A baseline survey report. KARI/IPM-CRSP Collaborative project
218. Widnyana, K.,Ngurah Suprapta, D., Sudana, I.M., Rai,I.G.and Temaja,M. (2013) *Pseudomonas alcaligenes*, Potential Antagonist Against *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersicum* the Cause of Fusarium Wilt Disease on Tomato. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**.3(7)
219. Windham, M.T., Elad, R. and Baker, R. (1986).A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp*. **Phytopatholgy**. 76: 518-521.
220. Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G., (2006). **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.pp1736
221. Wiśniewska, H., Basiński, T., Chełkowski, J., Perkowski J. (2011). *Fusarium sporotrichioides* Sherb. toxins evaluated in cereal grain with *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Protection Research**. 51 (2): 134–139.
222. Xie, G., Tan, S. and Yu, L. (2012). Morphological and molecular identification of pathogenic fungal of post-harvest tomato fruit during storage. **African Journal of Microbiology Research** 6 (22): 4805–4809
223. Yadeta, K.A., Thomma, B.P.H.J. (2013): The xylem as battle ground for plant hosts and vascular wilt pathogens. **Frontiers in Plant Science**, 4.1-9.
224. Yamamoto, S., Shiraishi, S. and Suzuki, S. (2015) Are cyclic lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 responsible for the plant defence response in strawberry against *Colletotrichum gloeosporioides* **Lett. Appl Microbiol** 60(4):379–386
225. Zainudin, N.A.I.M., Perumal, N. (2015). Mycotoxins production by *Fusarium* and *Aspergillus* species isolated from cornmeal**. International Journal of Agriculture and Biology** 17 (3): 440–448

226. Zape AS, Gade RM, Ravindrasingh, Deshmukh VA(2014) Efficacy of different antagonist against the *Sclerotium rolfsii*، *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani*. **An Int quarterly J Life Sci**. 9(4):1431-1434
227. Zidan, L. (2020) **Morphological and Molecular Identification of *Fusarium* Isolates on Wheat and Detection of genes responsible for Mycotoxins production**, Ph.D. thesis. Damascus University. Damascus, Syria. p 181
228. Zouari, M., Elloumi, N., Ahmed, C., Delmail, D., Rouina, B., Abdallah, F., Labrousse, P. (2016) Exogenous proline enhances growth, mineral uptake, antioxidant defense, and reduces cadmium-induced oxidative damage in young date palm (*Phoenix dactylifera* L.)". **Ecological Engineering**. 86:202-209.

Abstract

Twenty-four isolates of the pathogen (*Fusarium*) were collected and purified from Tartous and Lattakia governorates. They were classified according to cultural and microscopic morphological characteristics. Their pathogenicity was evaluated towards the susceptible cultivar "Samertetra". Nine isolates belong to the type *Fusarium solani* and 15 isolates belong to the type *Fusarium oxysporum*. Two isolates were selected, the most virulent FU6 (*Fusarium solani*) and FU7 (*Fusarium oxysporum*), the disease severities of which were 56.7% and 73.3%, respectively. A test of the susceptibility of 21 locally grown tomato cultivars and hybrids, in addition to 8 rootstocks of *Solanum lycopersicum* L., to Fusarium wilt was calculated. The cultivars varied in their susceptibility to infection with the tested isolates under conditions of artificial infection. No infection was recorded on the hybrid “Balhi Chocolate” with isolate FU7, as well as on the two hybrids “Balhi Chocolate and Magdalena” with isolate FU6. As for the wild rootstocks, no infection was recorded on Multifort F1, while it was The Beaufort F1 rootstock was the most susceptible to infection, with an infection rate of 41.67% for both fungal isolates, while the rest of the rootstocks were graded as moderately resistant (MR) to moderate susceptible (MS). In testing the ability of local bacterial isolates in inhibition of Fusarium wilt, which isolated from the rhizospher of healthy tomato plants and *Trifolium pupureum*, the best isolate in controlling *F. solani in vitro* and *in planta,* it was RIZN, classified biochemically and belonged to to *Bacillus cereus* (disease severity 3.33%, inhibition rate 43.8). The isolate A12 of *Pseudomonas fluorescens* reduced the disease severity and infection rate with *F. oxysporum in planta* (disease severity3.33%), but it did not inhibit the growth of the fungal mycelium *in vitro*. In contrast, the isolates I91 of the *Bacillus cereus* inhibited the growth of *F. oxysporum in vitro* (inhibition rate 33.3%). It was found that the isolate RIZN, isolated from the periphery root nodes of *Trifolium pupureum* and belonging to *Bacillus cereus*, inhibited infection with both pathogen species *F.solani* and *F. oxysporum in vitro* and *in planta*. The best studied commercial pesticide in inhibiting *F. solani* was *Trichoderma* (disease severity 6.67%), and the best in inhibiting *F. oxysporum* in the field was the pesticide NOVOTREAT (disease severity 6.67%), and there was no difference between it and treatment with *vesicular arbuscular mycorrhiza* VAM and the chemical pesticide Beltanol in controlling *F. solani* in the field (disease severity 16.67%).

Keywords: Tomato, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, Resistant cultivars, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, NOVOTREAT, *Vesicular arbuscular mycorrhiza* VAM, *Trichoderma harzianum,* Beltanol

Syrian Arab Republic

Damascus University

Faculty of Agriculture Engineering

Department of Plant Protection

A study on Tomato Fusarium Wilt in Protected Cultivation and Efficiency of its Inhibition by Antagonist Bacteria

A dissertation submitted for degree of Master in in Agricultural Engineering, Plant Protection Department

by

Eng. Reem Aboud Alkhlif

Supervisors

Supervisor

Prof. Mohammad Fawaz Azmeh

Professor in

Plant protection Department

Damascus University

Associate Supervisor

Prof. Mahmoud abu Ghoura

Professor in

Plant protection Department

Damascus University

2022-2023