

عزل انواع الفطر *Fusarium* المرافقة لجذور و قواعد سيقان نباتات الطماطا المزروعه في بعض مناطق البصرة. وتشخيصها باستخدام طريقة التفاعل التسلسلي للبولىميريز (PCR)

(1) محمد عامر فياض (2) عدنان عيسى البدران (1) ايمان عبد الامير الجعفري

(1)- قسم وقاية النبات كلية الزراعة / جامعة البصرة (2)- قسم علوم الحياة كلية العلوم /

جامعة البصرة

البريد الالكتروني:- muamer2010@yahoo.com

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة / جامعة البصرة للفترة من 2010 – 2011 بهدف تشخيص انواع الفطر *Fusarium* المرافقة لجذور و قواعد سيقان نباتات الطماطا. شخّصت 7 انواع تابعة للجنس *Fusarium* اعتماداً على الصفات المظهرية و أكد تشخيصها باستخدام تقانة التفاعل التسلسلي للبولىميريز Polymerase chain reaction . كما اظهرت بعض الانواع عدم قدرتها على النمو في وسط يحوي كلورات البوتاسيوم في حين تمكنت انواع اخرى من النمو. كما اظهرت النتائج قدرة بعض العزلات العائده للنوع *F.oxyporum* و *F.solani* و *F.chlamydosporum* على تحمل تراكيز عالية من المبيد كاربندازيم وصلت الى اكثر من 1000 مايكروغرام/مل. كما وجد ان عزلة الفطر *F.oxyporum*(IBRI)المعزولة من الزبير كانت اكثر العزلات تأثيراً في خفض نسبة انبات بذور الطماطا اذ انخفضت نسبة الانبات من 91.2% في معاملة المقارنة الي 30% في هذه المعاملة.

المقدمة

تعتمد على الصفات المظهرية عادة ما يفتقر للدقة المطلوبة لذلك في الوقت الحاضر يعتمد تشخيص المسببات الممرضة للنبات ومنها انواع الفطر *Fusarium* على طرق الوراثة الجزيئية مثل تقانة التفاعل التسلسلي للبوليمراز Polymerase reaction (PCR) (Hirano و Arie 2006) .يعد استخدام المبيدات الكيميائية وخاصة مبيدات البنزاميدازول ومنه المبيد Carbindazim من اكثر الطرق المستخدمة في مكافحة الامراض الناجمة عن الفطر *Fusarium* الا ان ظهور السلالات المقاومة لفعل المبيدات يعد من اهم المشاكل الناجمة عن استخدامها (Agrios 2005)، ونظرا لاهمية محصول الطماطا فقد جاءت هذه الدراسة بهدف عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لجذور هذا المحصول العائدة للجنس *Fusarium* ودراسة حساسيتها للمبيد كاربندازيم.

يعد محصول الطماطا *Lycopersicom* *esculentum* من اهم المحاصيل التي تزرع في محافظة البصرة خلال الموسم الشتوي، يصاب هذا المحصول بامراض عدة ومنها مرض الذبول الفيوزاري المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum fsp lycopersici* اذ تراوحت نسبة الاصابة بهذا المرض في المناطق الصحراوية من محافظة البصرة بين 25-40% (عبد العزيز 2001). تتواجد فطريات عدة مرافقة للمجموع الجذري لمحصول الطماطا وقد تتداخل هذه الفطريات مع الفطر *F.oxysporum* مسببة تدهور المحصول (الحلو، 1995). يعد تشخيص المسبب احد اهم الحلقات الاساسية في تطبيق برامج مكافحة الناجحة، ونظرا لوجود تقارب كبير من الناحية المظهرية بين انواع الفطر *F.oxysporum* لذا فان استخدام الطرق التي

طرائق العمل والمواد المستخدمة

1- عزل وتشخيص انواع الفطر *Fusarium*

(250 ملغم/لتر)، حضنت الاطباق في درجة حرارة 25م لمدة 7 ايام ثم نقيت الفطريات النامية باستخدام طريقة البوغ المنفرد وشخصت انواع الفطر *Fusarium* اعتمادا على (Booth 1971)،

2-أختبار حساسية انواع الفطر من الفطر *Fusarium* لمادة كلورات البوتاسيوم (KClO3)

جمعت نباتات طماطا مصابة بالذبول الفيوزاري من مزارع مختلفة من محافظة البصرة والسماوة، غسل المجموع الجذري وجزء من قاعدة الساق بماء جاري للتخلص من الاتربة ثم قطعت الجذور وقواعد السيقان الى قطع صغيرة بطول 0.5-1سم وبعد تعقيمها سطحيا بواسطة هايوكلورات الصوديوم Naocl زرعت القطع في اطباق حاوية على الوسط الزراعي PDA مضاف له المضاد الحياتي Chlorophenicol

غرام L asparagine و 15 غرام KClO₃
 و 30 غرام Sucrose و 2 غرام NaNO₃
 و 1 غرام KH₂PO₄ و 0.5 غم MgSO₄·7H₂O
 و 20 غم Agar و 1 لتر ماء (Pearson، 1980)

نفذت هذه التجربة بهدف دراسة الاختلافات
 الايضية بين انواع الفطر Fusarium واتخذت
 الحساسية لمادة كلورات البوتاسيوم كمعيار لهذه
 الاختلاف، وتتلخص الطريقة بتنمية انواع الفطر
 على وسط زرعي يتكون من المواد الاتية:- 1.6

3- اختبار حساسية انواع الفطر Fusarium للمبيد Carbindazim

لانواع الفطر Fusarium حضنت الاطباق في
 درجة حرارة 25م وبعد سبعة ايام تم قياس معدل
 قطر مستعمرة الفطر. وحسبت قيمة التراكيز
 المثبط LC50% للنمو من خلال حساب خط
 السمية. نفذت التجربة بثلاث مكررات لكل نوع
 من انواع الفطر.

حضر الوسط الغذائي PDA وبعد تعقيمة وقبل
 تصلبه اضيف المبيد Carbindazim الى الوسط
 بتراكيز مختلفة هي 5 و 4 و 3 و 2 و 1 و 0.5
 ملغرام/لتر. رجت الدوارق بشكل جيد لغرض
 تجانس المبيد في الوسط. ثم صب في اطباق
 بتري قطر 9 سم بعد تصلب الوسط لقح مركز كل
 طبق بقرص 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة

4- التشخيص الجزيئي لانواع الفطر Fusarium باستخدام تقانة RAPD-PCR

Denaturation و 36م لمدة دقيقة للالتحام
 Annelling و 72م لمدة دقيقة واحدة للاستطالة
 extention تم ترحيل نواتج ال PCR على
 هلام الاكاروز الحاوي على صبغة الاثيديوم
 . صورت نواتج الترحيل الكهربائي وتم حساب
 عدد الحزم الناتجة واستنادا الى وجود او عدم
 وجود الحزمة في المواقع المختلفة حيث اعطي
 الرقم 1 للحزمة الموجودة ورقم صفر للحزمة
 غير الموجودة ثم ادخلت القيم في برنامج
 Ntsys-pc2-1 لعمل مصفوفة حسب معامل
 التشابة بين العزلات ثم تم رسم الشجرة الوراثية
 حسب برنامج (UPGMA)

أستخلص الحامض النووي الرايبوزي منقوص
 الاوكسجين DNA لانواع الفطر حسب طريقة
 Murry و Thmpson (1980) واستخدمت
 5 بادئات في تحديد التباين الوراثي بين انواع
 الفطر Fusarium جدول (1) اجري تفاعل
 التضخيم العشوائي لل DNA المتعدد الاشكال
 RAPD-PCR باستخدام 25 نانوغرام من DNA
 الانواع الفطرية و 2 مايكوليتتر من كل باديء
 واستخدمت عدة التفاعل المجهزة من شركة
 Promega الولايات المتحدة الامريكية. وضعت
 انابيب التفاعل في جهاز Thermal cycler وفق
 البرنامج الاتي:- 94 م لمدة 30 ثانية للمسخ

رطبت بعدها تربة الاصص بالماء وبعد ثلاث ايام
زرعت ببذور الاصناف المختلفة وبمعدل 10
بذور لكل اصيص استخدمت في هذه التجربة 7
اصناف تم الحصول عليها من شركة Unifert
فرع البصرة وهي: Mingo F1 و Houran F1
و Nun3029 ToF1 و PikoRipe 748
و Pso2405019 و Pso550 و To1416F1
نفذت التجربة حسب التصميم العشوائي الكامل
وبثلاث مكررات لكل صنف حسب النسبة
المئوية لانبات البذور من المعادلة الاتية:-

-تأثير انواع مختلفة من الفطر *Fusarium* في
انبات وموت بادرات اصناف مختلفة من
الطماطة.

اجريت هذه التجربة داخل اصص بلاستيكية سعة
1.5 كغم حاوية على تربة مزيجية مع بتموس
بنسبة 1/3 عقت خلطة التربة بجهاز الموصدة
تحت درجة حرارة 121م وضغط 1.5 كغم /سم²
لمدة ساعة واحدة ولثلاث مرات ،عبئت التربة في
الاصص ثم لوئت بلقاح انواع الفطر *Fusarium*
المحمل على بذور الدخن المحلي وبنسبة 5%

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{نسبة الانبات في المقارنه} - \text{نسبة الانبات في المعاملة}}{\text{نسبة الانبات في المقارنة}} \times 100\%$$

النتائج والمناقشة

1-عزل وتشخيص انواع الفطر *Fusarium*

،(19071) واستنادا الى هذه الصفات تم تشخيص
عدة انواع مثل النوع *F.oxysporum* و
F.moniliforme اعطيت انواع الفطر حروف
رمزية تدل على منطقة العزل واعتبر كل نوع
عزلة .اتفقت نتائج هذه التجربة مع نتائج دراسات
سابقة اشارت الى عزل انواع عدة من الفطر
Fusarium من جذور وقواعد سيقان نباتات
الطماطا (El-Kazzaz واخرون، 2008 و
Charoenporn واخرون، 2010) ان وجود
انواع الفطر *Fusarium* وخاصة النوع
F.solani مرافقا للفطر *F.oxysporum*
المسبب الرئيس لمرض ذبول الطماطا يفاقم من

أظهرت نتائج العزل من جذور وقواعد سيقان
نباتات الطماطا وجود انواع عديدة من الفطر
Fusarium جدول(1)، صنفت العزلات التي تم
الحصول عليها اعتمادا على الصفات المظهرية
مثل لون المستعمرة وكثافة النمو والصبغات التي
تكونها المستعمرة ولون المستعمرة من اسفل
الطبق كما استخدمت بعض الصفات المجهرية
مثل وجود او عدم وجود الابواغ الكونيدية
الصغيرة *Microconidia* والابواغ الكونيدية
الكبيرة *Macroconidia* والابواغ الكلاميدية
Chlamydospore وشكل الابواغ الكونيدية
وشكل الخلية القدمية وشكل ال (Philid Booth)

التاثير السلبي للفطر *F.oxysporum*. اختيرت
خمسة عزلات هي IAM و IBR1 و IKR و ISF
و ISM لغرض اجراء التجارب اللاحقة وذلك
كون هذه العزلات ظهرت في جميع العينات
وبنسبة 100%.

جدول (1) الفطريات المعزولة والمناطق التي عزلت منها.

ت	المنطقة	الرمز	التشخيص الأولي
1	سفوان	ISF	<i>Fusarium oxysporum</i>
2	خور الزبير	IKR	<i>Fusarium proliferatum</i>
3	ام قصر	IAM	<i>Fusarium sp</i>
4	القرنة	IKN	<i>Fusarium sp</i>
5	السماعة	ISM	<i>Fusarium oxysporum</i>
6	البحيس	ILH	<i>Fusarium oxysporum</i>
7	أبي الخصيب	IAB	<i>Fusarium sp</i>
8	كرمة علي	IKM	<i>Fusarium sp</i>
9	الزبير	IZE	<i>Monilinia sp</i>
10	البرجسية 1	IBR1	<i>Fusarium oxysporum</i>
11	البرجسية 2	IBR2	<i>Fusarium solani</i>
12	النجف	IJN	<i>Fusarium moniliforme</i>

2-قابلية عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* على اختزال النترات

أظهرت نتائج هذه التجربة جدول (2) ان جميع
عزلات الفطر تمكنت من النمو في الوسط الحاوي
على كلورات البوتاسيوم $KClO_3$ عدا العزلة
IAM من الفطر *F.oxysporum* المعزول من
ام قصر مما يشير الى قابلية هذه العزلة على
انتاج انزيم Nitrate reductase اذي يعمل
على تحويل NO_3 الى NO_2 السام للفطريات (Pearson
واخرون، 1986) كما اظهرت نتائج

البوتاسيوم (Katan وآخرون، 1999) تتخذ الحساسية لمادة كلورات البوتاسيوم كمعيار لاختلاف القدرات الايضية والقدرة على استغلال المصادر النتروجينية المختلفة اذ ان الحساسية لهذه المادة ترتبط بالقدرة على انتاج الانزيم المختزل للنترات Nitrate reductase (Karimian وآخرون، 2010)

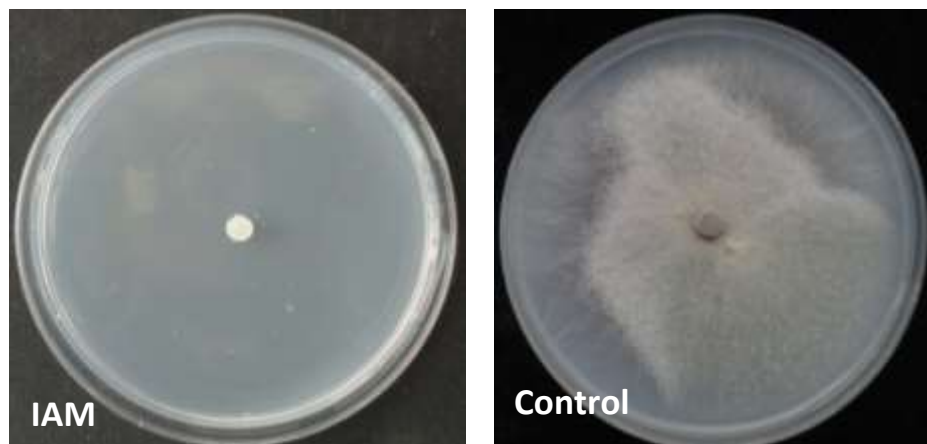
هذه التجربة تغير طبيعة النمو في العزلات التي تمكنت من النمو حيث اصبح الغزل الفطري خفيفا كما ان قطر مستعمرة النمو لجميع العزلات التي تمكنت من النمو لم يتجاوز 4.5 سم مقارنة ب 8-9 سم في معاملة المقارنة (وسط خالي من مادة كلورات البوتاسيوم). تتفق نتائج هذه التجربة مع دراسات سابقة اشير فيها الى اختلاف انواع او عزلات الفطر في حساسيتها لمادة كلورات

جدول (2) قابلية عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* على اختزال النترات

العزلات	معدل النمو /سم لوسط حاوي على مادة كلورات البوتاسيوم	معدل النمو /سم لوسط خالي من مادة كلورات البوتاسيوم
IAM	0.0 *	8.0 *
IBR1	4.5	9.0
IKR	3.0	8.5
ISF	3.0	8.5
ISM	3.5	9.0
المعدل	3.8	8.6

*معدل ثلاث مكررات

0.293 L.S.D



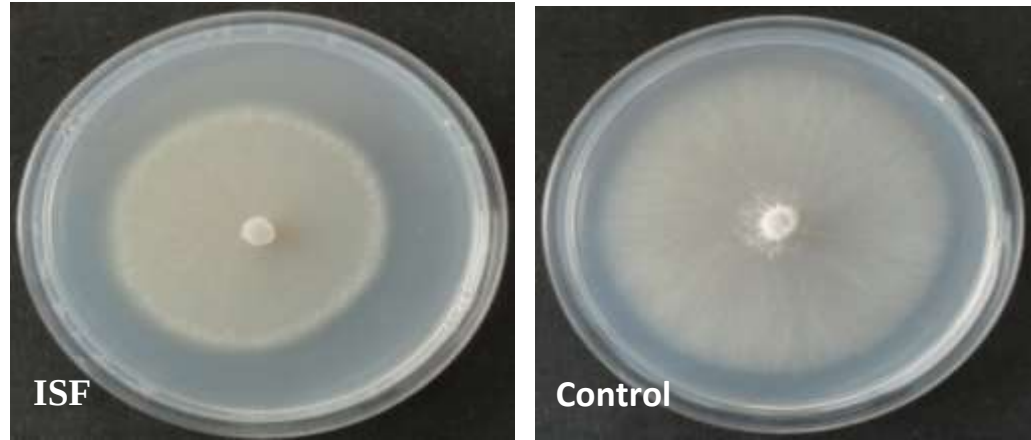
صورة (1) تأثير مادة كلورات البوتاسيوم $KClO_3$ في نمو العزلة IAM



صورة (2) تأثير مادة كلورات البوتاسيوم $KClO_3$ في نمو العزلة IBR1



صورة (3) تأثير مادة كلورات البوتاسيوم $KClO_3$ في نمو العزلة IKR



صورة (4) تأثير مادة كلورات البوتاسيوم $KClO_3$ في نمو العزلة ISF

3- تأثير المبيد كاربندازيم Carbendazim في نمو عزلات الفطر *Fusarium*

كاربندازيم (Staub، 1991 و Mchugh و Schreiber، 1984). هن مقاومة الفطريات للمبيدات الفطرية ربما تعود الى تغيرات جينية تمكن الفطر من تحويل الموقع الحساس لجزيئة المبيد (McGrath و Vawdrey، 1987) أذ ان الاستخدام المتكرر للمبيد وبتركيز عالية يولد ضغط انتخابي على المجموعة الفطرية مما يؤدي الى اقضاء الافراد (العزلات) الحساسة والبقاء على الافراد المقاومة (Tort و اخرون، 2004). يستخدم المبيد كاربندازيم في كثير من دول العالم لمكافحة الامراض الناتجة عن الفطر *Fusarium* وذلك لحساس معظم انواع هذا الفطر للمبيد كاربندازيم والتي قد تعود الى تأثير الفطر على صناعة الاحماض النووية DNA و RNA أو التأثير على صناعة البروتين والانزيمات الحيوية (شعبان والملاح، 1993 و Iqbal و اخرون، 2010

تشير نتائج هذه التجربة جدول (3) ان بعض العزلات اظهرت مقاومة عالية للمبيد Carbendazim اذ تحملت تراكيز وصلت الى اكثر من 1000 مايكوغرام /مل، اثنين من هذه العزلات تعود للنوع *F.oxysporum* وهي العزلة ISF او IBR1 المعزولة من سفوان والبرجسية على التوالي وعزلتين تعود للنوع *F.solani* وهي العزلة IBR2 و IKM المعزولتين من البرجسية وكرمة على على التوالي اما العزلة ICH2 فتعود الى النوع *F.Chlamydosporum* وهي من العزلات الصينية. اما بقية العزلات فكانت حساسة للمبيد اذ تراوحت قيمة التركيز الفعال لتنشيط 50% من النمو 1.5- 3.5 مايكوغرام/مل. ان مقاومة بعض عزلات الفطر للمبيد كاربندازيم يتفق ولو جزئيا مع نتائج دراسات سابقة اشير فيها الى مقاومة بعض انواع الفطر *Fusarium* و *Verticillium* لمركبات البنزاميدازول الت يعود لها المبيد

جدول (3) حساسية عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* الى المبيد Carbendazim.

رقم العزلة	العزلة	الفطريات	EC ₅₀ (µg/ml)
1	ISF	<i>Fusarium oxysporum</i>	<1000
2	IKR	<i>Fusarium proliferatum</i>	2.1
3	IAM	<i>Fusarium oxysporum</i>	2.2
4	IKN	<i>Fusarium oxysporum</i>	2.1
5	ISM	<i>Fusarium oxysporum</i>	2.3
6	ILH	<i>Fusarium oxysporum</i>	2.2
7	IAB	<i>Fusarium oxysporum</i>	2.2
8	IKM	<i>Fusarium solani</i>	<1000
9	IZE	<i>Monilinia fructicola</i>	98.8
10	IBR1	<i>Fusarium oxysporum</i>	<1000
11	IBR2	<i>Fusarium solani</i>	<1000
12	IJN	<i>Fusarium moniliforme</i>	1.5
M1	ICH1	<i>Fusarium moniliforme</i>	2.0
M2	ICH2	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	<1000
M3	ICH3	<i>Fusarium moniliforme</i>	2.3
M4	ICH4	<i>Fusarium kyushuense</i>	3.5

4- عدد الحزم المتكونة والناجمة عن استخدام 5 بادئات مختلفة

اظهرت نتائج التحليل الجزيئي ل DNA عزلات *Fusarium* المدروسة وباستخدام تقانة RAPD-PCR ان جميع البادئات المستخدمة تمكنت من الالتحام في عدة مواقع من مجين العزلات المدروسة عدا الباديء M13 الذي لم

المتكونة تم الحصول عليها من استخدام الباديء CNS1 والتي بلغت 42 حزمة تراوح حجمها بين 6000-1750 bp وتباين عدد الحزم من البادئات الاخرى بين 46-129 حزمة.

اختلفت حجوم(اطوال) الحزم المتكونة وكان اكبرها حجما 6000 زوج قاعدي والناجمة عن الباديء OPB-02 في حين بلغ اصغرها حجما 320 زوج قاعدي والناجمة عن الباديء OPA-20

يمكن من الالتحام مع العزلة ISF المعزول من سفوان رغم اعادة المحاولة عدة مرات، كما باظهرت النتائج وجود اختلافات واضحة بين العزلات من خلال عدد الحزم المتكونة مع كل باديء. بلغ عدد الحزم المتكونة الناتجة عن استخدام جميع البادئات 447 حزمة، تمكن الباديء M13 من تكوين اعلى عدد من الحزم بلغت 161 حزمة تراوح حجمها بين 4898-400 bp (زوج قاعدي) بينما اقل عدد من الحزم

جدول(4) عدد الحزم المتكونة والناجمة عن استخدام 5 بادئات مع مجين عزلات الفطر *Fusarium* المختلفة

نوع الباديء	العزلات															
	ISF	IKR	IAM	!KN	ISM	ILH	IAB	IKM	IBR1	IBR2	IJN	M1	M2	M3	M4	مجموع الحزم
OPA-20	10	8	8	9	9	8	9	9	7	7	7	6	10	9	10	129
OBR-02	6	5	5	5	4	3	5	7	3	3	3	6	7	7	7	69
OPF-05	5	3	5	4	5	3	5	2	3	3	3	1	2	1	1	46
M13	10	11	12	9	13	10	9	8	12	12	12	5	12	12	12	161
CNS1	-	2	3	2	2	2	2	3	2	2	2	6	4	4	4	42

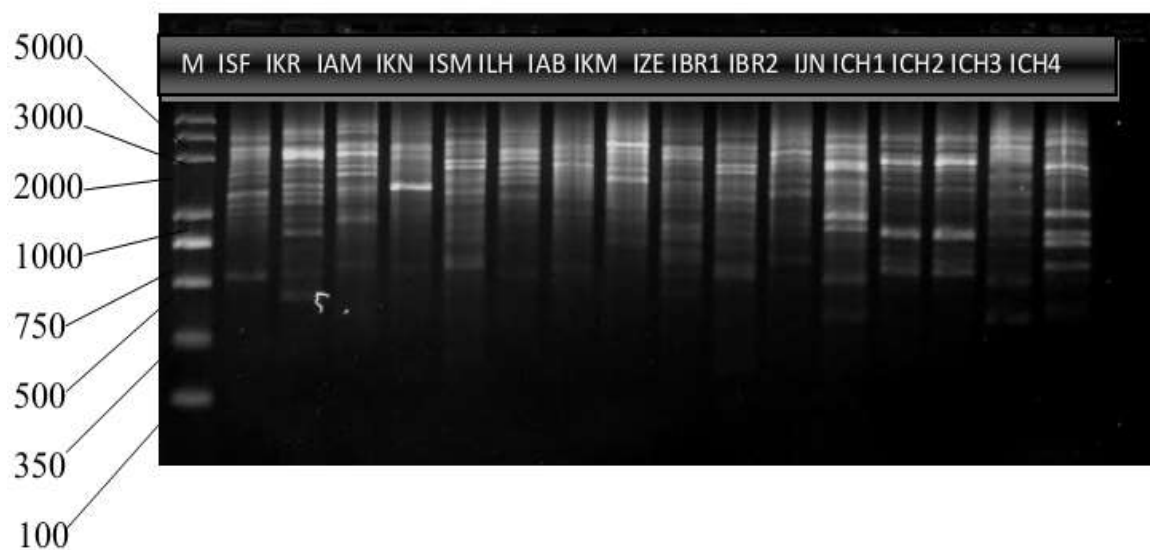
5- شجرة التشابة الوراثي

مجاميع شكل (2) تمثل الفرع الاول بالنوع *Monilinia fructicola* المستخدم كعزلة

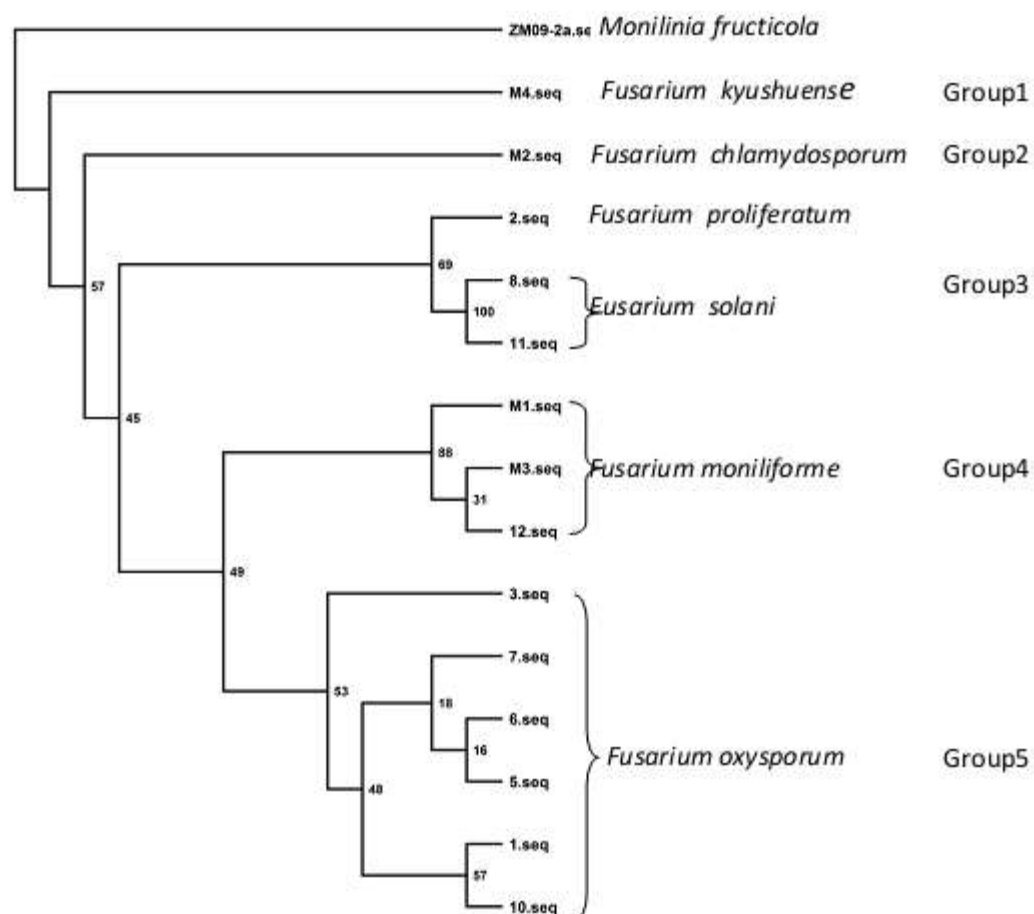
اظهرت مؤشرات التشابة بين ازواج الحزم لعزلات الفطر *Fusarium* شكل(1) المعزولة من العراق والصين وجود ستة افرع وخمسة

قصر وابو الخصيب واللحيس والسماوة وسفوان والبرجسية على التوالي. تتفق هذه النتائج مع نتائج Abd-Elslam وآخرون (2004) و Leong وآخرون (2010) حيث تمكن من الحصول على أربعة مجاميع لعزلات الفطر *Fusarium* المعزول من مصر باستخدام تقانة RAPD-PCR ان قلة نسبة التقارب الوراثي بين انواع الفطر *Fusarium* المعزول من مناطق جغرافية مختلفة قد يعزى الى اختلافات جينية وفسيلولوجية ناجمة عن اختلاف المنشأ الجغرافي (Karimian وآخرون 2010 و El-Khalifeh وآخرون 2009)

خارجية للمقارنة، وتمثل الفرع الثاني بالمجموعة الاولى التي تمثل العزلة M4 المعزولة من الصين والمتضمن النوع *F.kyushuense* وتمثل الفرع الثالث بالمجموعة الثانية المتمثلة بالعزلة M4 المعزولة من الصين والمتمثلة بالنوع *F.chlamydosporum* وتمثل الفرع الرابع بالمجموعة الثالثة التي تمثل النوعين *F.proliferatum* و *F.solani* المعزولة من مناطق خور الزبير وكرمة علي والبرجسية على التوالي. وتمثل الفرع الخامس بالمجموعة الرابعة المتمثلة بالنوع *F.moniliforme* للعزلات المعزولة من الصين والنجف اما الفرع السادس فتضمن المجموعة الخامسة المتضمنة النوع *F.oxysporum* المعزول من مناطق ام



صورة (5) الترحيل الكهربائي DNA العزلات ISF, IKR, IAM ,IKN, ISM, ILH, IAB, IKM ,IZE, IBR1, IBR2, IJN ,ICH1, ICH2, ICH3 and ICH4 على هلام الاكاروز 2% باستعمال البادئ M13



شكل(1) شجرة التشابه الوراثي لأنواع الفطر *Fusarium*. استخدم الفطر *Monilina* كعزلة خارجية للمقارنة

6-تأثير عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* في نسبة انبات وموت بادرات اصناف مختلفة من الطماطة

تراوحت النسبة المئوية لانبات البذور ونسبة موت البادرات لبقية العزلات بين 80-91.4% و 8.5-15% على التوالي، كما نتبين من النتائج ان اكثر الاصناف تأثرا هو الصنف PSO2405099 اذ بلغت النسبة المئوية لانبات البذور 60% مقارنة ب 94% للصنف Nun3029TOF

أظهرت نتائج هذه التجربة جدول(5) ان العزلة IBR1 العائدة للنوع *F.oxysporum* والمعزولة من البرجسية كانت اشد العزلات تأثيرا في النسبة المئوية لانبات بذور وموت بادرات الطماطا اذ بلغت النسبة المئوية لانبات البذور ونسبة موت البادرات 78.5 و 19.5 % على التوالي في حين

باختلاف الاصناف الى كمية المواد المطروحة من بذور كل صنف اثناء الانبات والتي تعد مواد محفزة لانبات الابواغ الكلاميدية للفطر (Inoue وآخرون، 2002). ان نتائج الجدول (تشير الى ان بعض العزلات تؤثر بشكل كبير في النسبة المئوية لموت البادرات مقارنة بغيرها من العزلات كما ان بعض الاصناف مثل الصنف PSO245099 تاتر بشكل اكبر من بقية الاصناف وقد يعود ذلك الى امتلاك الفطر *F.oxysporum* عدة سلالات فسيولوجية يختلف تأثيرها باختلاف الصنف المستخدم (Walker 1971، McGrath وآخرون، 1987، Agrios، 2005)

وتراوح النسبة المئوية لانبات البذور لبقية الاصناف بين 72.6-92.6% كما تبين من النتائج ايضا ان الصنف PSO2405099 كان اكثر الاصناف حساسية للاصابة بعزلات الفطر المختلفة اذ بلغ معدل النسبة المئوية لموت البادرات لهذا الصنف 30.3% مقارنة ب 5.7% للصنف Bi ngo F1 وتراوحت نسبة موت البادرات للاصناف الاخرى بين 7.2-18.2%.

جاءت نتائج هذه التجربة متفقة مع نتائج دراسات سابقة اشارت الى انخفاض النسبة المئوية لانبات بذور اصناف الطماط المختلفة عند زراعتها في تربة ملوثة بالفطر *Fusarium* (العنسي، 1999) وقد يعزى اختلاف تأثير العزلات في النسبة المئوية لانبات البذور

جدول (5) تأثير عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* في النسبة المئوية لانبات بذور أصناف مختلفة من الطماط

% لانبات								
الأصناف	BINGO F1	HOURLAN F1	Nun3029To F1	PIKRIPE 748	PS02405099	PS 550	To 1416 F1	المعدل
IAM	80.0*	90	80	80.0	30.0	80.0	90.0	75.7
IBR1	93.3	80.0	90.0	86.6	30.0	80.0	90.0	78.5
IKR	90.0	80.0	90.0	90.0	80.0	80.0	90.0	85.7
ISF	90.0	80.0	90.0	90.0	80.0	90.0	93.3	87.6
ISM	80	90	90	80.0	80.0	80.0	80	82.8
المعدل	86.6	84	88	85.3	60.0	82.0	88.6	

*معدل ثلاث مكررات .

R.L.S.D للأصناف 1.7

R.L.S.D للعزلات 1.5

R.L.S.D للتداخل 4.1

جدول (6) تأثير عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* في النسبة المئوية لموت بادرات أصناف مختلفة من الطماطا في تجربة الأصص .

% لموت البادرات								
المعدل	To 1416 F1	PS 550	PS02405099	PIKRIPE 748	Nun3029To F1	HOURAN F1	BINGO F1	الأصناف العزلات
13.3	11.1	20.0	42.1	20.0	0.00	0.00	0.00 *	IAM
19.5	14.0	20.0	42.1	20.0	14.0	20.0	6.6	IBR1
15.9	11.1	20.0	27.3	11.1	11.1	20.0	11.1	IKR
13.6	11.1	11.1	20.0	11.1	11.1	20.0	11.1	ISF
8.5	0.0	20.0	20.0	20.0	0.00	0.00	0.00	ISM
	10.6	18.2	30.3	16.4	7.2	12.0	5.7	المعدل

*معدل ثلاث مكررات .

R.L.S.D للأصناف 1.5

R.L.S.D للعزلات 1.4

R.L.S.D للتداخل 3.8

المصادر العربية

- الحلو، يحيى عاشور صالح (1995).
بعض الفطريات المرافقة لجذور
الطماطة وعلاقتها بنمو العائل
ومرض موت البادرات المتسبب عن
الفطر *Fusarium oxysporum*
f.sp. lycopersici رسالة
ماجستير، كلية الزراعة - جامعة
البصرة 62. صفحة .
- شعبان، عواد و نزار مصطفى الملاح
(1993). المبيدات ، مطبعة جامعة
الموصل، 250 صفحة.
- عبدالعزيز، محمد حسين علي(2001).
استجابة أصناف مختلفة من الطماتا

المصادر الاجنبية

- Abd Elsalam, A.K.; Omar,
M.R.;Migheli, Q. and
Nirenberg, H.I. (2004).
Genetic characterization of
Fusarium oxysporum f. sp.
vasinfectum isolates by random
amplification of polymorphic
DNA (RAPD) and amplified
fragment length polymorphism
(AFLP). Journal of Plant
Diseases and Protection. 6:
534-544.
- Agrious, G.N.(2005). Plant
pathology . New York .
Academic Press . 903 pp.
- Booth, C. (1971) The Genus
Fusarium common wealt.

- Institute, Kew, Surrey, England.
- Charoenporn, C.; Kanokmedhakul, S.; Lin, F. C.; Poeaim, S. and Soyong, K.(2010). Evaluation of bio-agent formulations to control *Fusarium* wilt of tomato. African Journal of Biotechnology. 9: 5836-5844.
 - Decal, A. Garcia – Lepe, R. and Melgoreago, P. (2000). Induced resistance by *Penicillium oxalicum* against *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* : Histological studies of infected and induced tomato stems . Phytopathology . 90: 260 -268.
 - El-Kazzaz, M.K. ; El-Fadly, G.B.; Hassan, M.A.A and El-Kot, G. A.N (2008) Identification of some *Fusarium* spp.using Molecular Biology Techniques. Egypt. J. Phytopathol. 36: 1-2 pp. 57-69.
 - El-Khalifeh, M.; El-Ahmed, A.; Al-Saleh, A.; Nachit, M.(2009) Use of AFLPs to differentiate between *Fusarium* species causing root rot disease on durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) .African Journal of Biotechnology .8 (18) pp. 4347-4352.
 - 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 Patho. 72: 273-283.
 - Inoue, I.; Namiki, F. and Tsuge, T.(2002). Plant colonization by the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* requires *FWO1*, a gene encoding a mitochondrial

- protein. American Society of Plant Biologists.14: 1869-1883.
- Iqbal, Z.; Pervez,M.A.; Ahmad,S.; Iftikar,Y.; Yasin,M.; Nawaz,A.; Ghazanf .M.U.; Dasti,A.A. and Saleem, A. (2010). Detrmination of minimum inhibitory concentrations of fungicides against fungus *Fusarium mangiferae*. Pak. J. Bot. 42(5): 3525-3532.
 - Karimian, B.; Javan-Nikkah, M.; Abbasi, M. and Ghazanfari,K (2010). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from common bean and distribution of mating type alleles.8(2): 90-97.
 - Katan, T and Katan, J. (1999). Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* from the UK, Netherlands, Belgium and France . Journal . Plant Pathology . 48: 541-549.
 - Leong, S.K.; Latiffah, Z. and Baharuddin, .S. (2010). Molecular Characterization of *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cubense* of Banana. American Journal of Applied Sciences.6: 1301-1307.
 - McHugh, J .B. and Schreiber, J. R (1984). Tolerance of *Verticillium dahliae* to benzimidazoles. Plant Disease. 68: 424 – 427.
 - McGrath, D.J.;Gillesie,Vawdrey L.(1987). Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* reces 2 and 3 in *Lycopersicon*

- pennellii (Fusarium wilt of tomato) Australian-Journal of Agricultural .(4)729-733.
- Murry, M.G. and Thompson, W.F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic acid Research, 8; 4321-4325
 - Pearson, C.A.S; Leslie, J.F. and Schwenk, F.W. (1986). Variable chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina* from corn soybean and soil .Phytopathology. 76:646-649.
 - Staub, T. (1991). Fungicide Resistance : Practical experience with antristance strategies and the role of integrated use. Ann. Rrv .Phytopathol. 29:421-442.
 - Tort, N ; Ozturk, L; Tosun, N .(2004). The effect of fungicide applications on anatomical structure and physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) J. Agric. 41(2): 111-122.

Isolation and identification of *Fusarium* species associated with roots and stem basal of Tomato plants in Basrah

¹Mohammed .A.Fayyadh ²Adnan issa Al bdran ¹Imman .S.Al ammer

¹Plant protection Dept /college of Agriculture/ Basrah University/

²Biology Dept /College of Science/ University of Basrah

Abstract

This study was conducted at the College of Agriculture/Uni of Basrah during 2010-2011 in aim to identify the the *Fusarium* species associated with root and stems of Tomato plants.Seven species were identified according to morphological characteristics and their identification were confirmed by RAPD-PCR.Results also showed that some species couldnot grew in media contain Potassium Chlorate,Result also showed that some isolates belong to *F.oxysporium*,*F.solani* and *F.chlamydosporium* revealed high ability to tolerate high concentration of the fungicide Carbendazim.It is also found that *F.oxysporum* isolate IBR1 which were isolated from al-Zuber reduced germination of Tomato seeda to 30% compared with 91.2% in control treatment.