مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (2) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (2) 2016

استخدام رشاحة بعض الفطريات كعوامل مكافحة حيوية و sodium benzoate و potassium sorbate في حماية نبات الفليفلة من الفطرين الممرضين *Fusarium oxysporum* و *F.solani*

الدكتورة نوال علي*
سومر شعبان**

(تاريخ الإيداع 8 / 9 / 2015. قبل للنشر في 16 / 3 / 2016)

□ ملخّص □

ثبطت رشاحة الفطور المستخدمة في التضاد الحيوي مثل *Trichoderma harzianum* ، *T.viride* ، *Aspergillus niger*، *Saccharomyces cerevisiae* والمستحضر التجاري (بيوكنت) الحاوي على *T.harzianum* النمو الإعاشي للفطر الممرض *F.solani* بنسبة تثبيط وصلت إلى 75%، 68 % ، 50%،30.7 %61.5،على التوالي، وللفطر *F.oxysporum* بنسبة تثبيط وصلت إلى 83.5 % ،75.5% ،38.8 %،22,2 % و68.8%على التوالي مقارنة بالشاهد. تفوقت رشاحة الفطر *T.viride* بتأثيرها في الوزن الجاف للفطريين الممرضين *F.oxysporum* و *F.solani* حيث وصلت نسبة التثبيط إلى 83.5% و84.5% على التوالي عند التركيز20%.

أظهرت النتائج انخفاضاً في الوزن الجاف للفطريين الممرضين مع ازدياد تركيز سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم حيث وصلت نسبة التثبيط مقارنة مع الشاهد في حالة بنزوات الصوديوم إلى 63%و76%و96% و100%و سوربات البوتاسيوم الى80% و86.5% و91% و100% عند التراكيز 0.2 و0.4 و0.6 و0.8 ملغ /مل على التوالي.

ساهم نقع بذور الفليفلة لمدة 12 ساعة بخليط من رشاحة الفطور المستخدمة في التضاد الحيوي بتركيز 20% كل على حده مع محلول سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم بتركيز 0.4 ملغ/مل في زيادة نسبة الإنبات من 48% في معاملة الشاهد إلى 95 % و 91% و 73% و 63% و 89% على التوالي عند زراعتها في تربة ملوثة بالفطر *F.oxysporum* في حين أن المعاملة لـ 6 ساعات رفع النسبة المئوية للإنبات في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.solani* إلى85 %و87% و69% و65% و83%.

الكلمات المفتاحية : *T.harzianum* ، *Aspergillus niger* ، *F.solani* ، الإنبات

* أستاذ– قسم النبات–كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية – سورية .
** طالب دراسات (دكتوراه)– قسم النبات–كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية – سورية

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (2) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (2) 2016

Using filtrates of some fungi as biocontrol agent and sodium benzoate and potassium sorbate and against the protection of plant pepper from tow pathogenic fungi *Fusarium oxysporum* and *F. solani*

Dr. Nowal Ali*
Somar Shaban**

(Received 8 / 9 / 2015. Accepted 16 / 3 /2016)

□ ABSTRACT □

Anti-fungal *Tichoderma harzianum*, *T.viride*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* and the commercial preparation (Biocont) inhibited the filamentous growth of the pathogenic fungi *Fusarium solani* by 75% , 68% , 50%, 30,7% and 61,5% respectively, and for *F. oxysporum* by 83,2% , 75,5% ,38,8% , 68,8% and 76% respectively compared with the control. *T.viride* at concentration filtrate (20%) surpassed the dry weight of both pathogenic fungi (*F. oxysporum* and *F. solani*) by 83.5% and 84.5% respectively.

The results showed a decline in the dry weight of both pathogenic fungi with increased concentration of potassium sorbate and sodium benzoate, reaching inhibition ratio to 63% , 76%, 96% and 100% compared with the control in the case of sodium benzoate, and 80% ,86.5%, 91% and 100% in the case of potassium sorbate when using concentrations of 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8 mg / ml respectively.

Soaking the pepper seeds for 12 hours with a mixture of 20% anti-fungal filtrate separately with 0.4 mg/ml potassium sorbate and sodium benzoate solution contributed in the increasing of germination rate from 48% in the control to 95% , 91% , 73% ,63%and 89% on respectively. when grown in contaminated soil fungus *F.oxysporum* while the treatment for 6 hours to raise the percentage of germination in contaminated soil fungus pathogen *F.solani* to 85% and 87% and 69% and 65% and 83%.

Key words: *T. harzianum, , Aspergillus niger, F. solani*, germination.

***Professor- Botany Department- Faculty of Sciences- Tishreen University- Lattakia- Syria.**
****Postgraduate student- Botany Department- Faculty of Sciences- Tishreen University- Lattakia- Syria.**

مقدمة

يزرع نبات الفليفلة (*Capsicum annuum* L.) في مختلف أنحاء العالم، وتأتي الصين في مقدمة الدول من حيث إنتاجه، يليها المكسيك، وتركيا، أما في سورية فقدرت وزارة الزراعة السورية(2012) المساحة بـ2821 هكتارا بلغ إنتاجها 38276 طنا، كما حددت المساحة المزروعة بالفليفلة في محافظتي اللاذقية وطرطوس بـ 605 هكتارا أنتجت 7955 طنا ويعد من أهم محاصيل الخضراوات التابعة للفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* باعتباره مصدرا هاما لمضادات الأكسدة كالمركبات الفينولية و β-كاروتين، واحتوائه على نسبة عالية من فيتامين C تفوق بخمس مرات نسبته في الليمون الحامض، و فيتامين A, E, K، والعديد من العناصر (الكالسيوم،واليود، والفوسفور....) والمركبات الكربوهيدراتية (Markus *et al.*,1999) ، و (سمينة ورفاقه ،2009).

يصاب نبات الفليفلة بالعديد من المسببات المرضية التي تؤدي الى نقص في المحصول، وتعد الفطور أهم تلك المسببات، وخاصة الفطران الممرضان *Fusarium solani* Mart و*F.oxysporum* المسؤولان عن حدوث مرض الذبول الوعائي ومرض تعفن الجذور لكثير من الخضروات الحولية، المحاصيل الزراعية. تصاب الأنواع النباتية المختلفة بأمراض الذبول الذي يسببه جنس فيوزاريوم بوساطة عدة أشكال متخصصة بكل عائل متمايزة وراثياً معروفة باسم Forma-specials (Bogale *et al.*,2006; Namiki *et al.*,1998). وذلك من خلال اختراق خيوط بشرة الجزر المصاب وصولاً إلى الأوعية الناقلة للنبات مسبباً انسدادها مانعاً بذلك وصول الماء والعناصر الغذائية إلى الأوراق فتجف الأفرع ويحدث الذبول (Agrios,2005.; Strange, 2003) .

وبسبب طبيعة وجود *الفطر Fusarium* داخل الأوعية الخشبية للنبات وقدرته على مقاومة الظروف غير الملائمة عن طريق تشكيل الأبواغ الكلاميدية، أصبح استخدام المبيدات الكيميائية غير مجدية للقضاء عليه، فضلا عما تسببه من تلوث للبيئة وللمصادر الطبيعية كالماء والهواء والتربة، كما تسبب أمراضاً مختلفة للإنسان كالأمراض السرطانية و تأثيرها على الجهاز العصبي(Bustos and Hartley,2009; Ayad *et al.*,2006) .

ولقد ازداد الاهتمام كثيراً بالبحث عن طرائق مكافحة آمنة بيئياً باستخدام كائنات حية منها بعض أنواع الجراثيم والفطريات، كعوامل مكافحة حيوية للممرضات النباتية، حيث يعتمد نجاح المكافحة الحيوية للممرضات النباتية على الفهم الدقيق للعلاقات البيئية لمختلف المجتمعات الإحيائية المشتملة على الممرضات النباتية وعوامل المكافحة الحيوية (Vincent *et al.*,2007; Strange,2003) .

اتجهت الأنظار حديثاً إلى استخدام بعض الأنواع الفطرية كعوامل مكافحة حيوية ويعد الجنس *Trichoderma* أحد الأجناس التابعة لصف الفطريات الناقصة الواسعة الانتشار في التربة والتي تنمو على أوساط صنعية مثل وسط مستخلص البطاطا ومستخلص الذرة بدرجة حرارة تتراوح بين 25-30 C وأهم الأنواع التابعة لهذا الجنس *T.harzianum* و *T.viride* .وقد استثمر الإنسان هذا الفطر في مجال المكافحة الحيوية إذ استفاد من آلياته والتي تتمثل في المنافسة على الغذاء والمكان، والتطفل المباشر باستخدام آليات القنص المختلفة، التضاد الحيوي بإفراز المضادات الحيوية وتحفيز آليات مقاومة لدى النباتات (Khalid and Sahi, 2007; Hibar *et al.*, 2007) .

أشار ديوان و كمال الدين (2009) إلى أن رشاحة كل من النوع *A. niger* و *T.harzianum* أدت إلى تثبيط النمو الفطري وخفض عدد الوحدات التكاثرية الحية للفطر الممرض *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* وازداد التثبيط بزيادة تركيز الرشاحة والمدة الزمنية ، كذلك فقد لعبت بعض المركبات مثل سوربات البوتاسيوم $CH_3CH:CHCH:CHCOOK$، بنزوات الصوديوم C_6H_5COONa و حمض السالسيليك $C_7H_6O_3$

والكيتوزان بصورة مفردة أو مشتركة مع بعض الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية دوراً هاماً في حماية النبات من الأمراض الفطرية، وذلك عن طريق حث النبات على زيادة إفراز مواد مثبطة لنمو الفطر الممرض، وزيادة ثخانة جدار الخلية النباتية، ترسيب الكالوس واللغنين، وكثير من نواتج الاستقلاب الثانوي مثل الفيتوالكسينات والفينولات (Amel *et al.*,2010) و (Abd-El-Kareem *et al.*,2006) .

وبين عبد الفتاح ورشاد (2000) أن استخدام تركيز 10^8 بوغة/مل من المعلق البوغي لفطر *Trichoderma* أو حمض البنزويك بتركيز 20 ملي مول أعطى أفضل نتائج فى مواجهة مرض التبقع البنى فى نباتات الرز *Oryza sativa* المتسبب عن الفطر *Helminthosporum oryza* مما ينعكس إيجابياً على إنتاج المحصول وجودته إذ يودي حمض البنزويك دوراً مركزياً في تركيب حمض السالسيليك الحيوي الذي يحرض أنسجة النبات على المقاومة الجهازية المكتسبة تجاه الممرضات النباتية المختلفة (Ribnicky *et al.*,1998) استخدم في هذا البحث بعض المركبات كسوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم في مجال المكافحة الحيوية لأول مرة محليا لهذه المركبات مع الرشاحات الفطرية.

أهمية البحث وأهدافه

تعد الظروف البيئية في الزراعة المحمية من العوامل المساعدة على نمو الفطريات، الأمر الذي يضطر المزارع إلى الإسراف في استخدام المبيدات الكيميائية، ونتيجة لظهور سلالات جديدة مقاومة لتأثير المبيدات الكيميائية، إضافة إلى ضررها في تلوث البيئة وتكلفتها العالية لذا اتجه البحث إلى إيجاد بدائل مناسبة أقل ضرراً للبيئة وذات تكلفة اقتصادية مناسبة كاستخدام رشاحة بعض الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية مثل *T.harzianum*، *T.viride*، *A.niger*، *S.cerevisiae* وبعض المركبات كسوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم للحد من خطورة الفطريين الممرضين *F.oxysporum F. solani* لذلك يهدف البحث إلى :

-اختبار القدرة التضادية لبعض الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية إزاء الفطرين الممرضين *F. oxysporum F. solani*

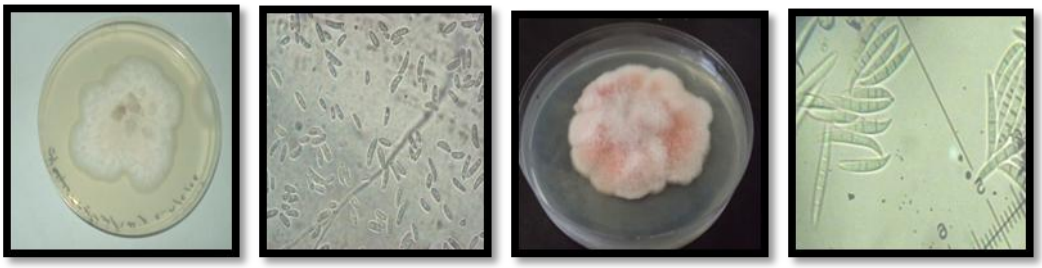
- دراسة تأثير رشاحة الفطريات في النمو الاعاشي والوزن الجاف للفطرين الممرضين المذكورين .
- دراسة تأثير سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم مع رشاحة الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية في حماية بذور الفليفلة من الفطرين الممرضين *F.solani F.oxysporum*

طرائق البحث و موادها

1 - عزل الفطرين الممرضين *F.oxysporum* و*F.solani* :

جمعت عينات من جذور نباتات الفليفلة المزروعة في حقل مكشوف في قرية الشير(الحفة) بطور الإثمار وظهرت عليها أعراض الإصابة بالفطر *F.oxysporum* – إصفرار أوراق النبات، تعفن أسفل الساق وتلونها باللون البني الغامق، كما أخذت عينات من جذور الفليفلة من بيت بلاستيكي في حريصون (بانياس)، ظهرت عليها أعراض الإصابة بالفطر *F.solani* – ظهور تقرحات على الساق، ذبول الأوراق، تقزم النبات، ضعف في نمو الجذر مقارنة بالنباتات السليمة– أحضرت العينات إلى المختبر وقطعت الجذور إلى قطع صغيرة 0.5 سم، وغسلت بالماء الجاري لإزالة الأتربة العالقة بها، عقمت بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم 5% لمدة 3–5 دقائق، وغسلت بماء مقطر معقم

وجففت بورق ترشيح لإزالة الماء الزائد عنها، وزعت في أطباق بتري تحتوي على 10 مل الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar PDA بمعدل 4 قطع في الطبق ، ووضعت الإطباق في الحاضنة عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^{o}$ لمدة 3 أيام وأجريت عملية التنقية على الوسط الغذائي PDA، وعرفت الفطور بالاعتماد على العديد من المراجع التصنيفية من بينها(Gerlach *& Nirenberg*,1982) صورة(1) وصورة(2).



(أ)الوجه العلوي للمستعمرة (ب) الأبواغ الكونيدية

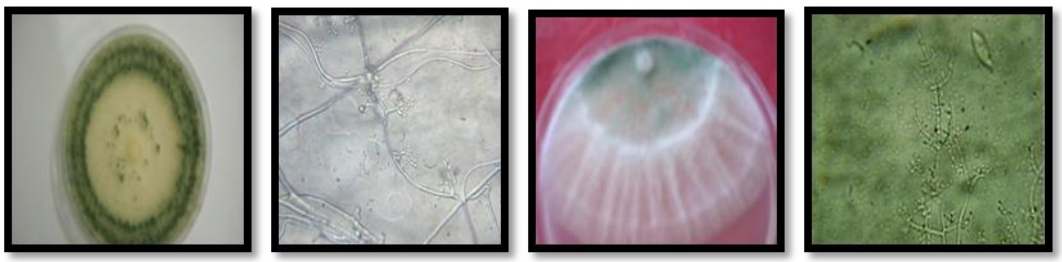
صورة (1) الفطر ***F.solani***

(أ)الوجه العلوي للمستعمرة (ب) الأبواغ الكونيدية

صورة (2) الفطر ***F.oxysporum***

2 -**عزل الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية** *T.harzianum* و *T.viride* و *A. niger* و S. *cerevisiae*

أخذ 0.5 غرام من عينة تربة مأخوذة من المحيط الجذري لنبات الفليفلة المصابة، بعد خلطها وتجفيفها وطحنها وغربلتها. نثرت فوق أطباق بتري تحتوي على 10 مل من وسط الـ PDA،المضاف إليه الصاد الحيوي Chloramphinicol لتفادي نمو الجراثيم، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^{o}$ لمدة أسبوع مع الفحص يومياً بدءاً من اليوم الثالث .صورة(3) (4) (5) عرفت الفطور بالاعتماد على الصفات المورفولوجية والمجهرية والبيومترية للمستعمرات وتمت مقارنة المعطيات مع المراجع التصنيفية التالية : (Saman ,2007; *et al.*,2006 Walter). كما تم الحصول على خميرة الخبز الجافة المتوافرة في السوق لشركة الغوطة ثم نميت على وسط الـ PDA ودرست صفاتها المزرعية .



(أ)الوجه العلوي للمستعمرة (ب) الفياليدات X40

صورة (3) الفطر ***T.viride***

(أ)الوجه العلوي للمستعمرة (ب) الفياليدات X40

صورة (4) الفطر ***T.harzianum***

(أ)الوجه العلوي للمستعمرة (ب) الحويصلة مع الأبواغ X10

صورة (5) الفطر ***A.niger***

3 -اختبار القدرة التضادية للفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية إزاء الفطرين الممرضين *F. oxysporum F. solani*

استخدمت طريقة الزرع المزدوج في أطباق بتري، وذلك بتلقيح مركز النصف الأول من الطبق بقرص قطره 8 مم من فطر المكافحة الحيوية (بعمر سبعة أيام) ومركز النصف الثاني بقرص قطره 8 مم من الفطر الممرض (بعمر 7 أيام) ، وفي معاملة *S.cerevisiae* عمل خط نمو لفطر الخميرة في مركز احد نصفي الطبق، أما في معاملة الشاهد فقد لقح أحد مركزي نصف الطبق بقرص من الكائن الممرض فقط، واشتملت كل معاملة على ثلاثة مكررات. حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^o$ لمدة 4 أيام ، وقدرت درجة التضاد بعد وصول نمو الفطر في معاملة الشاهد إلى حافة الطبق، تم حساب نسبة التثبيط المئوية الحاصلة % = $\frac{r1-r2}{r1} \times 100$ حيث r1 = متوسط قطر مستعمرة *Fusarium* في معاملة الشاهد. r2 = متوسط قطر مستعمرة *Fusarium* في المعاملة المدروسة . (Khalid and Sahi , 2007; Nikam *et al.*,2007).

4 - تأثير رشاحة الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية في الوزن الجاف للفطرين الممرضين *F. oxysporum* و *F. solani*

حضر وسط غذائي سائل Potato Dextrose Broth (PDB) ووزع في دوارق سعة 250 مل بمقدار 150 مل/دورق وبواقع ثلاثة مكررات لكل فطر، عقمت الدوارق بالاوتوكلاف، ثم لقح الوسط بقرص قطره 1 سم من المستعمرات الفطرية المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية بعمر سبعة أيام (لكل فطر على حدة)، حضنت الدوارق عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^o$ لمدة أسبوعين مع رج الدوارق يومياً لتوزيع النمو الفطري. رشحت محتويات كل دورق من خلال ورق ترشيح، وبعد الطرد المركزي (6000\دورة /دقيقة) لمدة 10دقائق مرر السائل الناتج عبر مرشح دقيق 0,45 مايكرومتر لتكون الرشاحة جاهزة للإضافة إلى المستنبتات الغذائية. وزعت رشاحة الفطريات المضادة كل على حدة في دوارق زجاجية مخروطية، تحتوي على المستنبت (PDB) المعقم، مزجت جيدا للحصول على مستنبتات غذائية تحتوي على التراكيز (20,15,10,5%) من الرشاحة الفطرية . لقح كل دورق حاو على الرشاحة بقرص قطره 5 مم من الوسط PDA النامي عليه *F. solani* أو *F.oxysporum* بعمر 7 أيام، ثم حضنت الدوارق عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^o$ لمدة 14 يوماً مع رج الدوارق يومياً، وبعد انتهاء فترة الحضن سحبت المشيجة الفطرية بوساطة ملقط معقم، ثم جففت عند درجة حرارة 50 C لمدة 24 ساعة وحسب الوزن الجاف وفق القانون التالي : الوزن الجاف للفطر=(وزن ورقة الترشيح+ وزن الفطر) – وزن ورقة الترشيح .

5 تاثير سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم في الوزن الجاف للفطرين الممرضين *F. oxysporum* و *F. solani*

وزع 100مل من الوسط (PDB) المعقم في دوارق مخروطية بحجم 250 مل، وأضيف إليها 10 مل من محلول السوربات والبنزوات بتراكيز 0.2 و0.4 و0.6 و0.8 ملغ /مل كل على حدة، ثم لقح كل دورق بقرص قطره 5 مم من الوسط PDA النامي عليه *F. solani* أو *F. oxysporum* بعمر 7 أيام مأخوذة من نفس الطبق في الفقرة السابقة، ثم حضنت الدوارق عند درجة حرارة $25 \pm 2\ C^o$ لمدة 14 يومياً مع رج الدوارق يوميا وبعدها حسب الوزن الجاف كما في الفقرة السابقة.

6 تأثير رشاحة الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية و سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم في حماية بذور الفليفلة من الفطرين الممرضين :

- معاملة البذور برشاحة الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية : نقعت بذور الفليفلة المعقمة سطحياً بهيبوكلوريد الصوديوم 5% في رشاحة الفطريات المستخدمة بتركيز 20% لمدة 6، 12،24ساعة، كل على حده، ثم وزعت في أصص تحتوي على تربة معقمة أضيف إليها 10 مل من معلق بوغي 10^6 بوغة/مل لكل من الفطرين *F.solani* و *F.oxysporum* ، وذلك بمعدل 10 بذور في الأصيص وعشرة أصص لكل معاملة. وضعت في جو المختبر،أما في معاملة الشاهد استبدلت الرشاحة بالماء العادي المعقم قبل الزراعة. حسبت النسبة المئوية للإنبات بعد خمسة عشر يوما من الزراعة =(عدد البذور النابتة / عدد البذور الكلي)x100 .

7 - معاملة البذور برشاحة الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية و(محاليل سوربات البوتاسيوم أوبنزوات الصوديوم) : نقعت بذور الفليفلة بمزيج بنسبة(1:1:1) من رشاحة الفطريات المضاد 20% وكل من محلول بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم بتركيز 0.4 ملغ/مل لفترات زمنية 6،12،24ساعة، ثم زرعت في تربة معقمة أضيف إليها 10 مل من معلق بوغي 10^6 بوغة/مل بأحد الفطرين الممرضيين *F.solani* أو *F.oxysporum*. سقيت الأصص بالماء العادي المعقم المضاف إليه 10% من مزيج رشاحة الفطور والبنزوات والسوربات، وحسبت النسبة المئوية للإنبات بعد خمسة عشر يوما من الزراعة .

8 - التحليل الإحصائي:

حللت النتائج إحصائياً بإجراء اختبار L.S.D لإيجاد الفروق المعنوية عند مستوى معنوية a=5%. باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS.

النتائج والمناقشة

1* - القدرة التضادية للفطريات المدروسة ضد الفطرين الممرضين *F.oxysporum* و *F.solani

تبين النتائج الموضحة في الجدول (1) أن جميع الفطريات المضادة المستخدمة لها قدرة تثبيطية تجاه الفطريين الممرضيين *F.solani* و *F.oxysporum* وكانت أعلى نسبة تثبيط عند المعاملة بالفطر *T.harzianum* 75 %و 83.2%على التوالي، وأقلها عند المعاملة بـ *S.cerevisiae* 30.7% للفطر الممرض *F.solani* و 22,2 % التوالي للفطر الممرض *F .oxysporum* مقارنة بالشاهد صورة(5).

جدول(1) قطر مستعمرة الفطر الممرض في تجربة الطبق المزدوج مع الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية

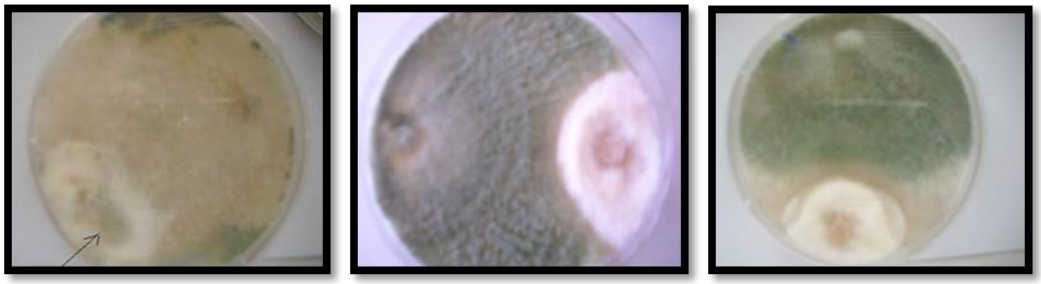
F.oxysporum		*F. solani*		الفطور المضادة
%	*r*	*%*	*r*	
83.2	d1.5	75	d 1.95	*T. harzianum*
75.5	c2.2	68	c 2.8	*T.viride*
38.8	b5.5	50	c 3.9	*A. niger*
22.2	b 7	30.7	b 5.4	*S. cerevisiae*
68.8	c2.8	61.5	c 3	*المستحضر التجاري Biocont*
0	a9	0	a 7.8	*الشاهد*

r= متوسط قطر مستعمرة الفطر الممرض لثلاث مكررات بالـ سم %= النسبة المئوية للتثبيط الحاصل مقارنة بالشاهد.

المعاملات ذات الأحرف(a,b,c,d) غير المتشابهة تشير إلى فرق معنوي بينهما عند مستوى احتمال 5%

يلاحظ من الجدول السابق (1) تفوق *T.harzianum* معنوياً في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *F.oxysporum* و *F.solani* ويعزى السبب الى قدرته على إفراز بعض أنزيمات الحلمهة Chitinases و Proteases و Lipases و Xylanases و Endochitinases المحللة لجدر الخلايا الفطرية، والمضادات الحيوية مثل Pyridone harzianopyridone و 6-pentyl – 2- pytone و Harzianum (EL hassan *et al.*,2007، Khalid and Sahi,2007، kucuk and kivanc,2004)، أما قدرة التثبيط عند الفطر *A. niger* فهي ناتجة عن إفراز بعض المضادات مثل Nominie و Aflavinine و Paspaline و Aspernomine، بينما رشاحة الفطر *S.cerevisiae* فكانت الأقل تأثيرا وقد يعزى السبب إلى نوعية المستنبتPDB إذ يفضل مستنبتات اكتر انتقائية كالمستنبت (NYDB) Dextrose Nutrient Yeast Broth على الرغم من قدرتها على إفراز مجموعة من الأنزيمات المحللة للجدر الخلوية ضمن الوسط المغذي إذ تشير بعض المراجع على قدرة بعض سلالات الخميرة على إنتاج سموم فطرية ذائبة ومتطايرة (صالح وآخرون،2009) .

وكان (Madhanraj *et al.*,2010) قد أشار إلى قدرة *T.viride* و *A.niger* على تثبيط الفط ر *F.solani* *بنسبة* وصلت إلى 85 % و 75 %، بينما وصلت النسبة عند Jhah and Jalal (2006) إلى 46% و77% على التوالي، وعند (Hend and Kahkashan, 2012) وصلت نسبة تثبيط الفطر *F.oxysporum* إلى 65 % و 58% عند استخدام الفطرين *A.niger* و *T.harzianum* واذا ماقورنت مع نتائج دراستنا نلاحظ تقارب من حيث تأثير الفطر *T.viride* واختلاف في تأثير الفطرين *A.niger* و *T.harzianum* وقد يعود ذلك إلى سرعة نمو العزلة المستخدمة حيث كانت العزلة *T.harzianum* لدينا أقوى من العزلة المستخدمة لدى (Hend and Kahkashan, 2012) في حين كانت العزلة *A.niger* لدى (Madhanraj *et al.*,2010) أكثر قدرة تثبيطية من العزلة التي استخدمت في البحث.



F.oxysporum*+ (Biocont)** ***F.oxysporum*+ *T.viride ***F.oxysporum*+ *T.harzianum***

صورة(6) التضاد الحيوي بين الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية والفطر الممرض *F.oxysporum*

2 - تأثير كل من رشاحة الفطور المضادة وسوريات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم في الوزن الجاف للفطرين الممرضين *F. oxysporum* و *F. solani*

يبن الجدول(2) تفوق رشاحة الفطر *T. viride* في تخفيض الوزن الجاف للفطريين الممرضيين *F.oxysporum* و *F.solani* إذ وصلت نسبة التثبيط إلى 83.5% و84.5% على التوالي عند التركيز 20% في حين كانت رشاحة الفطر *S.cerevisiae* الأقل تأثيرا بنسبة تثبيط وصلت الى 31% و 45.5%على التوالي، بينما لوحظ انخفاضا في الوزن الجاف للفطريين الممرضين *F.oxysporum* و *F.solan* مع زياد تركيز كل من سوريات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم إذ وصلت نسبة التثبيط في حالة بنزوات الصوديوم إلى 63%و76%و96%و100% وفي حالة سوريات البوتاسيوم إلى 80%و86.5% و91% و100% عند التركيز 0.2 و0.4 و0.6 و0.8 ملغ /مل على التوالي مقارنة مع الشاهد.

جدول (2) تأثير رشاحة الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية والمحاليل الكيميائية في الوزن الجاف للفطرين الممرضين *F. oxysporum* و*F. solani*

رشاحة الفطور و المحاليل المستخدمة	التركيز		*F. solani*		*F. oxysporum*	
			w	%	*w*	%
T. harzianum	%5		a0.25	24	c0.35	42.5
	%10		b0.18	45	d0.26	57.5
	%15		d0.1	70	d0.18	70.5
	%20		c0.08	76	e0.12	80
T. harzianum التجاري	%5		a0.28	15	c0.32	47.5
	%10		b0.22	33	c0.29	52.5
	%15		b0.20	40	d0.20	67
	%20		b0.15	54.5	d0.18	70.5
T.viride	%5		b0.15	54.5	c0.36	41
	%10		c0.1	70	c0.30	51
	%15		c0.09	72	d0.18	70.5
	%20		c0.05	84.5	e0.1	83.5
S. cerevisiae	%5		a0.30	9	a0.55	10
	%10		b0.23	30	ab0.50	18
	%15		b0.18	45.5	b0.48	21
	%20		b0.18	45.5	b0.42	31
A.niger	%5		a0.28	15	b0.40	34.5
	%10		a0.25	24	c0.33	46
	%15		b0.18	45.5	c0.32	47.5
	%20		b0.16	51.5	cd0.28	54
Sodium Benzoate	0.2	كل رشاحة	c0.12	63	d0.18	70.5

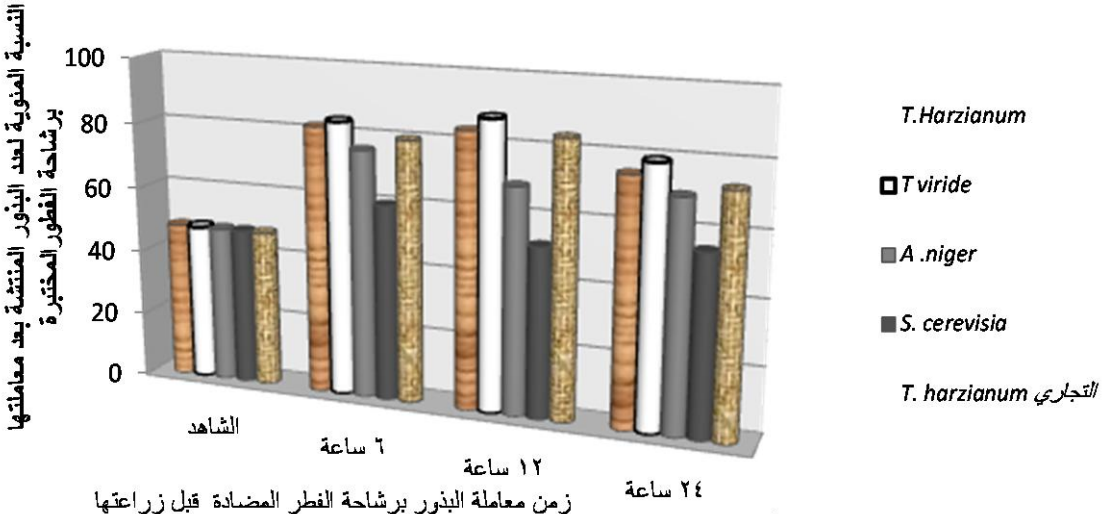
	0.4		c0.08	76	e0.1	83
	0.6		d0.01	96	f0.05	91
	0.8		0	100	0	100
Potassium Sorbate	0.2	ملغ/مل	c0.08	76	e0.12	80
	0.4		cd0.02	93	e0.08	86.5
	0.6		0	100	f0.05	91
	0.8		0	100	0	100
الشاهد			a0.33		a0.61	

w= متوسط الوزن الجاف لمستعمرة الفطر الممرض بالغرام %= النسبة المئوية للتثبيط الحاصل مقارنة بالشاهد.

توافقت نتائجنا مع العديد من الأبحاث التي أشارت إلى كفاءة رشاحة الفطريات في تثبيط نمو العديد من المسببات الممرضة للنبات ومنها *F.oxysporum* و *Pythium aphanidermatum* و *Macrophomina phaseolina* (الحيدري ،2004). وقد أشار Barakat وآخرون (2006) و(EL hassan *et al.*,2007) إلى أن التأثير التثبيطي لرشاحة مستعمرة الفطر *T.harzianum* يعود لقدرته على إنتاج مركبات سامة مثل Trichothecin و Gliotoxin و Trichodermin و pyrones، و إلى وجود العديد من الأنزيمات مثل Proteases و ß–glucosidase ، في حين أشار Harman (2000) الى قدرة *T.harzianum* و *A.niger* على افراز أنزيمات محللة أو مضادات حيوية او مواد متطايرة ذات تأثير تثبيطي في نمو العديد من الفطريات الممرضة، كما أشار Ajith and Lakshmidevi (2011) إلى انخفاض النمو الاعاشي للفطريات الممرضة مع زيادة تركيز البنزوات والسوربات، وقد عزى تأثير حمض السوربيك وأملاحه في الفطريين الممرضين الى تثبيط عدد من الأنزيمات في الخلية الفطرية، والتي تدخل في استقلاب الكربوهيدرات مثل الاينولاز ولاكتات ديهيدروجيناز، فضلاً عن تثبيط عدد من أنزيمات دورة حمض الليمون ، وتتميز مركبات السوربات والبنزوات بقدرتها على تثبيط الأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الخلوية الأساسية مما يودي إلى تثبيط قدرة الأحياء الدقيقة في النمو(جاسم،2012).

3 - تأثير رشاحة الفطور الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية في حماية بذور الفليفلة من الفطر الممرض *F .oxysporum*

يبين الشكل (1) أن نسبة البذور المنتشة في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F .oxysporum* كانت 82% و84% و 76% و 60% و 80% في حالة معاملة البذور لمدة 6 ساعات برشاحة *T.viride*،*T.harzianum* و*A.niger* و *S.cerevisiae* والمستحضر التجاري على التوالي والى 84 % و88 % و69% و52 %و84 % في حالة المعاملة لمدة 12 ساعة والى 75 % و 79 % و 70 %و55 %و73 % في حالة المعاملة لمدة 24 ساعة ومن خلال التجربة تبين أن المعاملة برشاحة انواع *Trichoderma* لمدة 12 ساعة أعطى أعلى النتائج في حماية البذور من تأثير الفطر الممرض مقارنة مع الشاهد غير المعامل والمزروعة في تربة ملوثة والتي وصلت إلى 48%.كما نلاحظ أن معاملة البذور لفترة 24 ساعة بالرشاحة الناتجة عن الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية أدى إلى انخفاض نسبة الإنبات حيت أنها قد تؤدي إلى تخرب البذرة بسبب محتويات الرشاحة من الأنزيمات

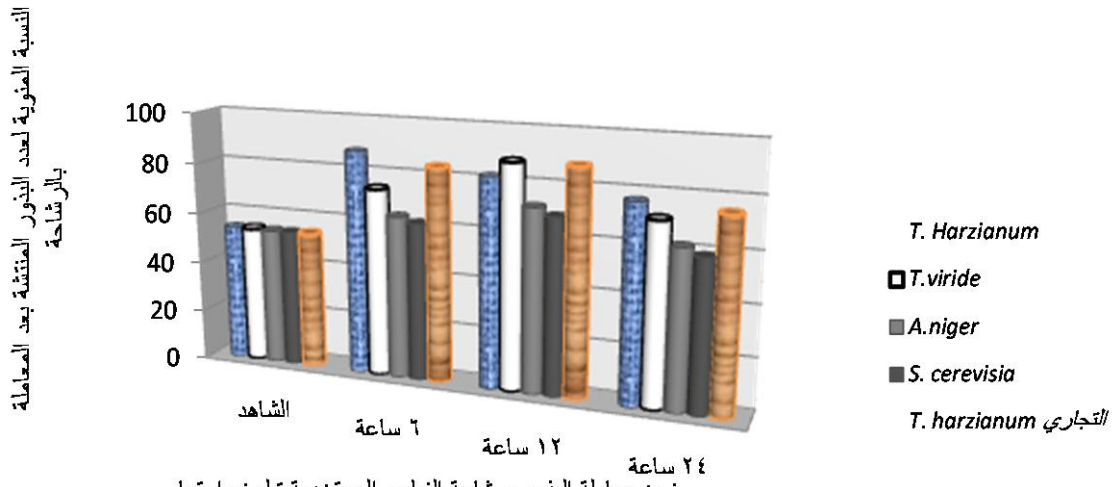


الشكل (١) تأثير رشاحة الفطور المستخدمة في حماية بذور الفليفلة من الفطر الممرض *F.oxysporum*

وقد ذكر (Hend and Kahkashan, 2012) أن نسبة انتاش بذور البندورة المعاملة بالفطرين المضادين *A. niger* و *T.harzianum* المزروعة في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.oxysporum* ارتفعت من 38 % إلى 50% و 80%على التوالي، كما يملك الفطر *A. niger* قدرة على إنتاج الأحماض العضوية مثل Oxalic acid و Citric acid والتي لها دور في خفض pH التربة مما يزيد مستوى الفوسفور في التربة ويزيد مقاومة النبات (kumari *et al.*, 2008).

4 - تأثير رشاحة الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية في حماية بذور الفليفلة من الفطر الممرض *F.solani*

تشير النتائج الواردة في الشكل (2) إلى قدرة رشاحة أنواع الفطور المدروسة على حماية بذور الفليفلة من تأثير الفطر الممرض *F.solani*، حيث بلغت نسبة البذور المنتشة بعد معاملتها برشاحة الفطور المضادة *S.cerevisiae*،*A.niger*،*T.viride*،*T.harzianum* والمستحضر التجاري لمدة 6 ساعات 88%و74%و64%و62%و84% على التوالي وعند المعاملة لمدة 12 ساعة 82%و88%و72%و69 %و88 % على التوالي وعند المعاملة لمدة 24 ساعة إلى 77% و71% و62% و59% و75% على التوالي مقارنة مع الشاهد غير المعامل و النابت في تربة ملوثة والتي وصلت الى54%.

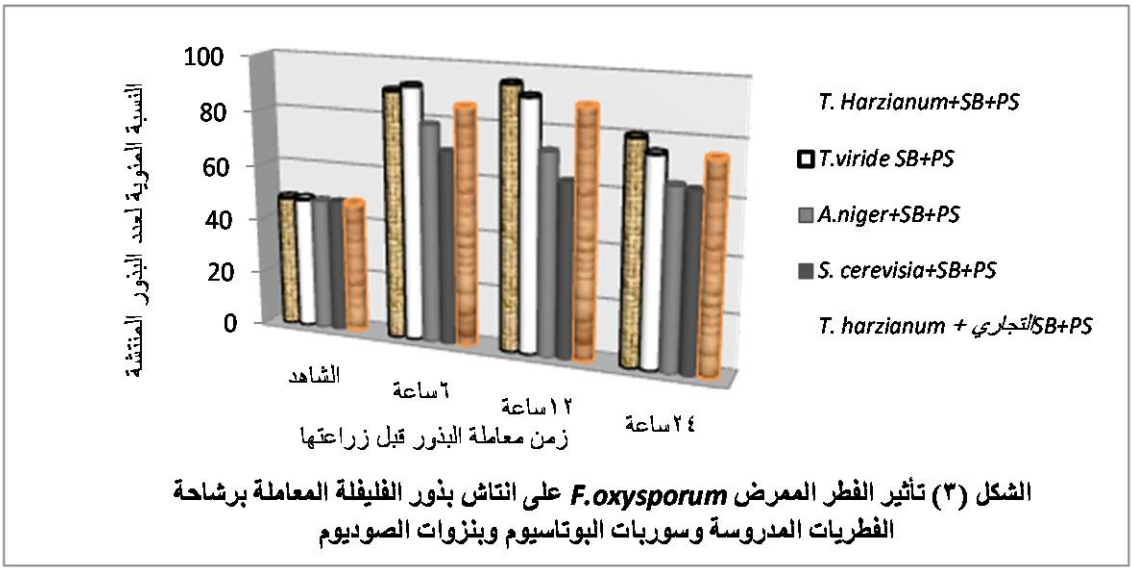


الشكل (٢) تأثير رشاحة الفطور المستخدمة في حماية بذور الفليفلة من الفطر الممرض *F.solani*

يتضح مما تقدم أن الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية وفرت حماية للبذور المزروعة في تربة ملوثة بالفطرين الممرضين وبالتالي زيادة نسبة الإنتاش، إذ أن رشاحة الفطور لها تأثير في المكافحة الحيوية لمسببات الأمراض، وزيادة النسبة المئوية للإنبات، بالإضافة إلى دخول الرشاحة إلى داخل البذور واستحثاث المقاومة الجهازية (Howell *et al.*,2002) ، بعكس البذور غير المعاملة و النابتة في تربة ملوثة والتي تعفن أغلبها لان أنواع الجنس *Fusarium* تعد من الفطريات المسببة لتعفن البذور وذلك لإفرازه الكثير من السموم والأنزيمات التي تؤثر على حيويتها.

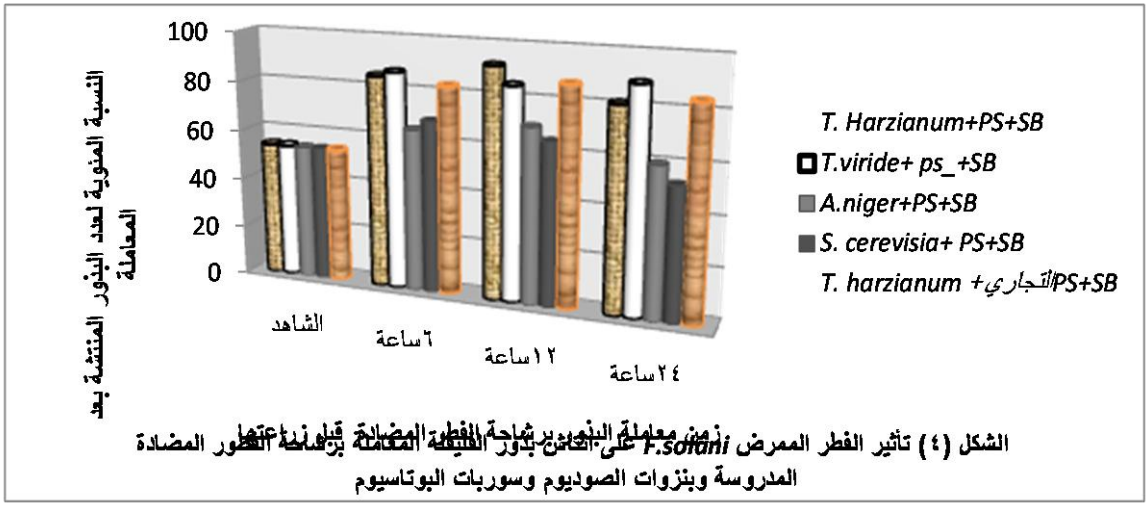
5 - التأثير المشترك لرشاحة الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية كل على حده مع السوربات والبنزوات في حماية بذور الفليفلة من *F. solani* *F. oxysporum*

يشير الشكل (3) إلى أن الاستخدام المشترك لرشاحة كل من *T.harzianum*، *T.viride*، *A. niger* و*S.cerevisiae* والمستحضر التجاري بتركيز 20% كل على حده مع محلول سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم بتركيز 0.4 ملغ/مل لمدة 6 ساعات قد رفع نسبة انتاش البذور المزروعة في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.oxysporum* إلى 90 % و92% و 79 % و 70% و86 %، وعند المعاملة لمدة 12 ساعة إلى 95 % و 91% و73% و 63% و 89% وعند المعاملة لمدة 24 ساعة إلى 80% و 75 % و 65% و 64 % و 75% على التوالي مقارنة بالشاهد وهنا نلاحظ أن استخدام خليط من رشاحة *T.harzianum* مع السوربات والبنزوات أعطى أفضل النتائج في حماية البذور من الفطر الممرض يليه استخدام رشاحة الفطر *T.viride* مقارنة بالشاهد غير المعامل والمزروع في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.oxysporum* حيث وصل الى48%.



الشكل (٣) تأثير الفطر الممرض *F.oxysporum* على انتاش بذور الفليفلة المعاملة برشاحة الفطريات المدروسة وسوريات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم

أما في حال الاستخدام المشترك لرشاحة *T.harzianum* ، *T.viride* ، *A. niger* *S.cerevisiae* والمستحضر التجاري مع محلول سوريات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم بتركيز 0.4 ملغ/مل فيبين الشكل (4) إلى أن المعاملة لـ 6 ساعات رفع النسبة المئوية للإنبات في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.solani* إلى85 %و87% و69% و65% و 83% وعند المعاملة لـ 12ساعة ارتفعت نسبة الإنبات الى 92% و 85% و 70% و 65 و 87% مقارنة بالشاهد غير المعامل والمزروع في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.solani* حيث وصل الى54%.



الشكل (٤) تأثير الفطر الممرض *F.solani* على انتاش بذور الفليفلة المعاملة برشاحة الفطور المضادة المدروسة وبنزوات الصوديوم وسوريات البوتاسيوم

يلاحظ من الشكلين (3) و(4) بأن تأثير الرشاحة للفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية كل على حده مضافا إليها سوريات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم عند نقع البذور لمدة 6 ساعات اعطى نسبة انتاش في حالة الفطر *F.oxysporum* وصلت إلى 90 % و 92% و 79 % و 70% و 86 %، وفي حالة الفطر *F.solani* وصلت الى 85 %و87% و69% و65% و83%

وكان El-Mohamedy (2015) وزملائه قد أشار إلى إن معاملة بذور الفول الأخضر برشاحة الفطر *T.harzianum* والبنزوات بنسبة 5% ساهم في خفض الإصابة بالفطر *F.solani* إلى 68,2 % و 70,3%. كما ذكر El-Mohamedy (2014) إلى أن معاملة شتلات البندورة بأملاح سوربات البوتاسيوم ساهم في خفض نسبة الإصابة بأمراض تعفنات الجذور وزيادة نسبة إنبات البذور والنمو الخضري للنبات كما ساهمت في زيادة جودة محصول البندورة مقارنة بالشاهد، حيث تمتلك سوربات البوتاسيوم قدرة كبيرة على تخريب الجدر الخلوية للفطريات الممرضة كما أنها تؤثر على المحتوى البروتيني للخلية الفطرية (الوكيل، 2010) و (Nadia and Fatooh ,2004)

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

-تمتلك جميع الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية قدرة تثبيطية تجاه الفطريين الممرضيين *F.solani* و *F.oxysporum* حيث أعطى الفطر *T.harzianum* أعلى نسبة تثبيط وصلت الى 75 % و 83.2%على التوالي.

-تفوقت رشاحة الفطر *T.viride* بتأثيرها في الوزن الجاف للفطريين الممرضيين *F.oxysporum* و *F.solani* حيث وصلت نسبة تثبيط النمو إلى 83.5% و84.5% على التوالي

-ساهم نقع بذور الفليفلة لمدة 6 ساعات بخليط من رشاحة الفطور المضادة بتركيز 20% كل على حده مع محلول سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم بتركيز 0.4 ملغ/مل في رفع نسبة إنبات البذور إلى 90 % و 92% و79 % و 70% و 86 % مقارنة بالشاهد غير المعامل والمزروع في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.oxysporum* والذي وصل الى 48%في حين أن المعاملة لـ 6 ساعات رفع النسبة المئوية للإنبات في تربة ملوثة بالفطر الممرض *F.solani* إلى85 %و87% و69% و65% و83%.

التوصيات

-التوسع في دراسة تأثير محاليل السوربات والبنزوات والكيتوزان في تحفيز المقاومة ضد الممرضات النباتية.

-إجراء تحليل لرشاحة الفطور المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية المعزولة محليا لتحديد المواد الفعالة .

المراجع

1 الحيدري،علي، جاسم. *عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة لتعفن البذور وموت نباتات الفليفلة ومقاومتها بتقنيات مختلفة بالفطر Trichoderma harzianum*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، الكوفة(2004)، 140.

2 ديوان، مجيد؛ كمال الدين،زاهد نوري. *تأثير راشحي الفطرين Aspergillus niger و Trichoderma harzianum وخليطهما في حيوية الفطر Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici وفي نمو بادرات الطماطة*، مجلة الكوفة للعلوم الزراعية/ المجلد (1) / العدد (1) (2009) 1-19.

3 –سمينة،غياث؛العبدالله ،عبيد؛عبدالرحمن،محمد. *تأثير التجفيف الطبيعي والتخليل على حمض اسكوربيك والفنولات والنشاط المضاد للاكسدة في الفليفلة الخضراء والحمراء* ،المجلة الاردنية في العلوم الزراعية،المجلد5،العدد3،(2009)1–12.

4 –صالح، ناهدة؛ آلاء ،خضير حسان ؛ ليلى، جبار صبر ؛ عمار امجد، عايش. . *تقويم فاعلية خميرة الخبز و بعض العناصر وحامض السالسلك في مكافحة الماكروفومينا*. مجلة العلوم الزراعية العراقية، (6) (2009) 9–16: .

5 –عبد الفتاح، جمال و رشاد، يونس . *تحسين إنتاجية نبات الأرز المصاب بمرض التبقع البنى بيولوجيا باستخدام فطر ترايكوديرما هارزيانم أو باستخدام بعض المواد المستحثة للمقاومة فى النبات* . المؤتمر الثالث لتسويق البحوث التطبيقية والخدمات الجامعية ، قسم النبات – كلية العلوم – جامعة المنصورة(2000) ،91– 97.

6 –جاسم، مكارم.*دراسة حول تاثير بنزوات الصوديوم على النمو والايض النيتروجيني عند الفطريات الكيسية* ،رسالة ماجستير، كلية العلوم،جامعة البصرة(2012)، 270.

7 – المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2012 – منشورات وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي – قسم الإحصاء، سوريا.

8 –الوكيل ، محمد عبد الرحمن . *طرق مكافحة أمراض النبات عن طريق التخلص من أو إنقاص اللقاح المرضي*، كلية الزراعة، جامعة المنصورة(2010).1–15.

9- ABD-EL-KAREEM, F., EL-MOUGY, N.S., EL-GAMAL, N.G., and FATOUH, Y.O.. *Use of chitin and chitosan against tomato root rot disease under greenhouse conditions*. Res. J. Agric. Biol. Sci. 2(2006): 147-152.

10- AGRIOS ,G Plant Pathology,5th,Acdemmic Prees Inc :New York.(2005), 984.

11- Ajith, P.S. and Lakshmidevi, N*Effects of sodium and potassium salts on Colletotrichum capsici incitant of anthracnose on bell pepper*. Journal of Agricultural Technology Vol. 7(2) .(2011*)*: 423-430.

12- AMEL, A., SOAD., H., AHMEDM., and ISMAIL, A.A. *Activation of tomato plant defense response against Fusarium wilt disease using Trichoderma harzianum and salicylic acid under greenhouse conditions.* Res. J. Agric. Biol. Sci. 6.(2010): 328-338.

13- AYAD,F.,RAMADI,M.,KHIAREDDINE,H.,HIBAR,KH.,MAHIOUB,M*Ev aluation of Fungicides for Control of Fusarium Wilt of Potato*. Journal of Plant Pathology (2),5.(2006), 239–243.

14- BARAKAT , R. M. , FADEL Al – Mahareeq and Mohammad . I . Al – Masri. . *Biological control of Sclerotium rolfsii by using indigenous Tricoderma spp. Isolated from Palestine* . Herbron University Research Journal . Vol. (2) . No. (2) . (2006) pp. (27 – 47) .

15- BOGALE,M.k., WINGFIELD, B. D., WINGFIELD. M. J.; EMMA. T. *Characterization of Fusarium oxysporum isolates from -Ethiopiausing AFLP, SSR and DNA sequence analyses*. Fungal Diversity, 23, (2006) 51-66.

16- BUSTOS ,O. E and HARTIEY, B. R *Ecotoxicology and Testicular Damage (Environmental Chemical Pollution)*. A Review. Int. J. Morphol., 26,4, .(2009)833-840.

17- EL-HASSAN ,M., WALKER, F., SCHONE,J.,BUCHENAURE,H *Antagonistic effect of 6-pentyl-alpha-pyrone produced by Trichoderma toward Fusarium moniliforme*. Journal of plant Diseases(2),114, .(2007) 62–68.

18- El-Mohamedy, R. S. Riad ; 2 Shafeek M.R. and 2Fatma A. Rizk .*Management of root rot diseases and improvement growth and yield of green bean plants using plant resistance inducers and biological seed treatments*. Journal of Agricultural TechnologyVol.11(5) .(2015*)*:1219-1234

19- EL-MOHAMEDY, RIAD . *Control of Root Rot Diseases of Tomato Plants Caused by Fusarium solani, Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii Using Different Chemical Plant Resistance* Inducers, Tunisian Journal of Plant Protection, Vol. 9, (2014) No. 1.

20- GERIACH, W and NIRENBERG,H*The genus Fusarium- a Pictorial Atlas* .2,Berlin,(1982),404.

21- HARMAN, G.E. *Overview of Mechanisms uses of Trichoderma spp*. The American Phytopathology ,96,2,(2000),190-194.

22- HEND A and KAHKASHAN. P. *Biological control of fusarium wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria.* African Journal of Biotechnology Vol. 11(5), (2012) pp. 1100-110.

23- HIBAR ,K., DAAMI , M., El MAHJOUB, M**.** *Induction of Resistance in Tomato Plants against Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici by Trichoderma spp*. Tunisian Journal of Plant Protection , 2, 1,(2007),47-58.

24- HOWELL, C.R.; HANSON, L.E. STIPANOVIC, R.D. and PUCKBER, L.S.. *Introduction of trepenoid synthesis in cotton root and control of Rhizoctonia solani by seed treatment with Trichoderma vi*. Phytopathology. 90,2002:248-252

25- JHAH P.K and JALALl. B.L. *Biocontrol of pea root rot incited by Fusarium so/ani f. sp.pisi with rhizosphere mycoflora.* Indian Phytopath. 59 (1) (2006*)*: 41 -43

26- KHALID,I.Y and SAHI, A.N*In vitro biological control of Fusarium oxysporum causing wilt in Capsicum annuum.* Pakistan 5,2, .(2007) , 85-88.

27- KUCUK,C and KIVANCE ,M *In Vitro Antifungal Activity of Strains of Trichoderma harzianum.* Turk J Biol, TURKEY, 28, .(2004), 111-115.

28- KUMARI, A.,K, K. KAPOOR., B, S. KUNDU. and R. K. MEHTA. *Identification of organig acids produced during rice strawdecomposition and their rolein rock phosphate solubilization*. Plant Soil Environ., 54,(2) (2008):72-7.

29- Madhanraj. P., Ambikapathy.V., Panneerselvam A *BIOLOGICAL CONTROL OF BANANAWILT CAUSED BY FUSARIUM SOLANI (Mart.) Sacc. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical* Technology, V(I): Issue-(3), .(2010*)*P:*1033*.

30- MARKUS, F., DAOOD, H. G., KAPITANY, J. and BIACS, P.A. *Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (paprika) as a function of ripening and some technological factors*. J. Agric. Food. Chem., 47(1999).:100-107.

31- NADIA G. EL-GAMAL and Y.O. FATOOH, *Application of Fungicides Alternatives for Controlling Cowpea Root Rot Disease under Greenhouse and Field Conditions* Plant Pathol. Dept., National ResCentre, Giza, Egypt , Egypt. J. Phytopathol., Vol. 32, No(2004).. 1-2

32- NAMIKI, F., SHIOMI, T.,NISHI, K *Pathogenic and genetic variation in the Japanese strains of Fusarium oxysporum f. sp. melonis*. Phytopathology, 88.(1998),804-810.

33- NIKAM,P. S., JAGTAP. G. P., SONTAKE,P. L. *Management of chickpea wilt caused by Fusarium oxysporum f. sp. Ciceri*. African Journal of Agricultural Research, India, 2 ,12, (2007*)* ,692-697.

34- RIBNICKY, D., SHULAEV, V., RASKIN, I. *Intermediates of salicylic acid biosynthesis in tobacco*. Plant Physiol.118,(1998).:565–572.

35- SAMAN,A. *Biological control of Fusarium solani f. sp. phaseoli the causal agent of root rot of bean using Bacillus subtilis CA32 and Trichoderma harzianum RU01*. RUHUNA JOURNAL OF SCIENCE, Sri Lanka, 2, (2007) 82-88.

36- STRANGE,R. (*Introduction to Plant Pathology*. University College London, 2003, 497.

37- VINCENTt,CH.,GOETTEL.S.M.,LAZAROVITS.G. *BIOLOGICAL CONTROl A Global Perspective CAB International*/AAFC(2007), 467.

38- WALTER M., JAKLITSC r, , G. J., SARAH, L., BING, S.L*Hypocrea rufa/Trichoderma viride: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia*.Stud Mycol USA, 56,1,(2006),135-177.