

DOI: <https://doi.org/10.65814/ijar.2023.27.1.42>

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

صبا صادق حسين¹ عبد النبي عبد الامير مطرود¹ محمد حمزة عباس¹

E-mail: abdu1988875@yahoo.com

© 2023 Directorate of Agricultural Research, Ministry of Agriculture. This is an open access article under the CC by Licenses <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



الملخص

هدفت هذه الدراسة الى إيجاد مواد كيميائية تثبط الفطريات الملوثة للموز النسيجي بشكل تام دون التأثير في النبات من خلال استخدام المبيد الكيميائي بلتانول وكبريتات النحاس وتداخلتهما. من خلال مجربات البحث تم عزل وتشخيص الفطريات من مزارع نسيجية تعود الى نبات الموز صنف Grand 9 اذ تم عزل ستة انواع فطرية هي *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Cladosporium oxysporum* و *Penicillium* و *Penicillium expansum* و *Penicillium digitatum*. اظهرت المثبطات الفطرية المختبرة، المبيد Beltanol وكبريتات النحاس فاعلية جيدة ضد الفطريات المعزولة، إذ اظهر المبيد Beltanol اعلى نسبة للتثبيط فبلغت 100% لكل الفطريات قيد الدراسة بالتراكيز 125 ppm و 250 و 500 ، ما عدا التركيز 62.5 ppm ، اذ بلغت متوسط تأثير التركيز في الفطريات جميعها 48%، وظهرت كبريتات النحاس نسبة تثبيط 100% بالتراكيز 1000ppm و 1500 و 2000 مع الفطريات كافة، اما مع التركيز 0.5 غم/لتر كان اعلى تثبيط مع الفطر *A. flavus* بنسبة بلغت 66% واقل تثبيط كان مع الفطر *C. oxysporum* بنسبة تثبيط 30%. وأوضحت الدراسة التأثير التآزري بين المبيد Beltanol 62.5 PPM وكبريتات النحاس 500 ان استخدام اقل التراكيز وبشكل تآزري اعطى نسب تثبيط 100% للفطريات الملوثة كافة للمزارع النسيجية وأيضاً في انبات ابواغها.

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

المقدمة

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

* جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول

¹كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.

تاريخ تسلم البحث: 14/شباط/2023

تاريخ قبول البحث: 10/ايار/2023

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

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

[15 و 20].

استخدمت كبريتات النحاس في المجال الزراعي لمقدرتها على مكافحة المسببات الممرضة الفطرية لوجود معدن النحاس السام فيها وايضا كونه عنصر غذائي أساسي للخلايا الحية لأنه مكوناً للعديد من الإنزيمات المعدنية مثل السيتوكروم سي وأوكسيداز

[14 و 21]. النحاس عنصر مهم للنبات ويعد من العوامل المساعدة النشطة في عمليات بايولوجية مختلفة فهو يدخل في أنظمة الانزيمات والبروتينات والتكوين الجنيني [5]. ويعد عنصراً غير ساماً للنبات اذا استخدم بتركيز منخفضة. ان الهدف من هذه الدراسة هو استخدام الطرق الكيميائية المتمثلة بالمشبطات الفطرية للحد من التلوث الفطري بشكل كامل داخل جارات الموز النسيجي الذي يعد من اهم أسباب فشل الزراعة النسيجية.

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة للموز النسيجي

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

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

تمت تنقية المستعمرات النامية بأخذ جزء من طرف المستعمرة بواسطة الثاقب الفليني ووضع في أطباق تحتوي على الوسط الزراعي PDA أيضاً، وتم حضنها على درجة 25 °م وبعدها تم تشخيص الصفات المظهرية والمجهريّة تحت المجهر المركب نوع Biolab line -الصين وعلى قوة تكبير 40X حسب المفاتيح التصنيفية المذكورة في Geiser و LoBuglio [9]. حفظت العزلات على وسط زراعي PDA وبدرجة حرارة 4 °م الى حين اجراء التجارب.

اختبار القدرة الإراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي:

حضر وسط زراعي PDA وصب في أطباق بتري بمعدل ثلاث مكورات لكل فطر وتمت زراعة بذور الفجل (*Raphanus sativus*) بعد تعقيمها بواسطة هيبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بنسبة 5% لمدة دقيقتين ثم غسلت البذور بماء مقطر معقم بعدها نشفت على ورق ترشيع ثم زرعت بشكل دائري حول جزء المستعمرة لكل عذلة وكلا على حدة، اما معاملة المقارنة، فقد زرعت على الوسط الزراعي نفسه ولكن بدون عذلة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25 °م لمدة سبعة ايام. حسبت القدرة الامراضية للفطريات حسب سلم مرضي مكون من 6 درجات، 0 = بذور سليمة، 1 = تلون جزء من البادرات باللون البني مع اتصالها بالفطر، 2 = الفطر يغزو غلاف البذرة لكن البادرات سليمة، 3 = غلاف البذرة خال من الفطر لكن البادرات مصابة، 4 = غلاف البذرة والبادرات مصابة 5 = البذور مصابة وغير نابذة [15].

تأثير تراكيز من المبيد الفطري Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة:

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

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

تأثير تراكيز من كبريتات النحاس في تثبيط الفطريات الملوثة

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

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

التأثير التآزري بين كبريتات النحاس والمبيد Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة

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

تأثير المبيد Beltanol 125 ppm مع 500 ppm CuSO₄ في انبات الابواغ

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

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

التحليل الاحصائي:

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

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة للموز النسيجي

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

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

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

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

اختبار القدرة الإراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي

أظهرت نتائج اختبار القدرة الإراضية للفطريات الملوثة للموز النسيجي في الوسط الغذائي P.D.A (جدول 2- ان الفطر *A. niger* كان أكثر تأثيراً في النسبة المئوية لإصابة البذور إذ بلغت شدة الإصابة 51.66%، تلاه الفطر *P. expansum* إذ بلغ 47.75% وتفاوتت النسبة المئوية لإصابة البذور لبقية الفطريات. وهذا ما ذكره Wu [27] و Perrone et al. [18]، إذ ان الضرر الكبير للفطريات الملوثة واهمها الفطران *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.* هو ان لها المقدرة على انتاج الفلاتوكسينات مثل B₁, B₂, G₁, G₂ والاحماض والتي يكون لها عمل في اتلاف الخلايا، وبين Suleiman و Omafè [25] ان هذه الفطريات تسبب اضرارا جسيمة في انتاج البذور وجودة البذور من خلال تدهور انباتها وتعفننها.

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

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

تأثير بعض التراكيز من مبيد Beltanol في تثبيط الفطريات الملوثة

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

expansum والفطر **A. flavus** بنسب تثبيط 86.5 % و 86 % وعلى التوالي. اما اقل نسبة للتثبيط فقد بلغت 83.5 % للفطر **Cladosporium oxysporum**. فيما يخص تأثير تراكيز المبيد **Beltanol** في تثبيط الفطريات الملوثة فقد بينت النتائج ان النسب النوية للتراكيز (125، 250، 500) PPM قد تثبتت جميع الفطريات المعزولة بنسبة بلغت 100 % وبفرق معنوي عن التركيز 125 PPM الذي سجل نسبة تثبيط 48 %. ويعزى السبب الى حساسية هذه الفطريات للمبيدات الفطرية وتفاوتها في نسب التثبيط وهذا ما اكده [6]Corkley et al. و [22] Sanchez et al.، إذ ان حساسية الفطر **P. digitatum** تكون عالية للمبيدات الفطرية مع تفاوت هذه الحساسية للفطريات الاخرى.

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

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

تأثير تراكيز من CuSO_4 في تثبيط الفطريات الملوثة

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

جدول 4: تأثير تراكيز من CuSO_4 في تثبيط الفطريات الملوثة

متوسط تأثير التثبيط	% لتثبيط الفطريات				الفطريات
	تراكيز CuSO4 ppm				
	2000	1500	1000	500	
91.5	100	100	100	66	Aspergillus flavus
87.5	100	100	100	50	A. niger
82.5	100	100	100	30	Cladosporium oxysporum
87.5	100	100	100	50	Penicillium digitatum
85	100	100	100	40	P .expansum
90	100	100	100	60	Penicillium spp.
	100	100	100	49.3	متوسط تأثير التراكيز
لمتوسط الفطريات = 1.667 ، لمتوسط التراكيز = 1.361 التداخل = 3.339					L.S.D 0.05

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

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

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

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

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

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

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

تأثير المبيد Beltanol بتركيز 125 PPM مع CuSO_4 بتركيز 500 PPM في انبات الالبواغ

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

جدول 6 : تأثير مييد Beltanol مع CuSO_4 في تثبيط انبات الابواغ

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

المصادر

- 1- Abass, M. H.; U. A. M. Al-Abadi; and A.M.S. Al-Kaby (2007). The efficiency of Henna leaves extracts and some fungicides to reduce the fungal contamination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue culture. Iraqi Journal of Biotechnology. 6(2),21-40.
- 2- Al-Kaby, A. M. S. (2004). The effect of some antibiotics and fungicides on the growth of embryogenic callus of date palm *Phoenix dactylifera* L. Basra Journal Date Palm Res.3(1/2),97-110.
- 3- Al-Machi, S. H. (2014). The Effect of Nutrition Systems and Exchange of Diets on Some Productive Performance of Broilers. Al-Qadisiyah Journal For Agriculture Sciences. 4(2), 40-49.
- 4- Bani, Y. A. and S. H. Samir (2006). Using different approaches to control cucumber root rot disease caused by *Phytophthora drechsleri* Tucker. Proceeding 9th Arab Congress of Plant Protection. 19-23 November 2006, Damascus, Syria.
- 5- Bednarek, P. T. and R. Orłowska (2020). Time of In Vitro Anther Culture May Moderate Action of Copper and Silver Ions that Affect the Relationship between DNA Methylation Change and the Yield of Barley Green Regenerates. Plants, 9(9), 1064.
- 6- Corkley, I.; B. Fraaije and N. Hawkins (2022). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. Plant Pathology.71(1), 150-169.
- 7- Dotto, J.; A. O. Matemu and P. A. Ndakidemi (2019). Nutrient composition and selected physicochemical properties of fifteen Mchare cooking bananas: A study conducted in northern Tanzania. Scientific African, 6, e00150.
- 8- Fisher, M. C.; N. J. Hawkins; D. Sanglard and S. J. Gurr (2018). Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security Science. 360, 739–742.
- 9- Geiser, D. M., and K. F. LoBuglio (2001). The monophyletic Plectomycetes: Ascosphaerales, Onygenales, Eurotiales. Systematics and Evolution, Part A, 201-219.
- 10- Guillen, Y. and A. Machuca (2008). The effect of copper on the growth of wood-rotting fungi and a blue-stain fungus. World Journal Microbiol Biotechnol. 24, 31–37 .
- 11- Hardisson, A.; C. Rubio; A. Baez; M. Martin; R. Alvarez and D. Diaz (2001). Mineral composition of the banana (*Musa acuminata*) from the island of Tenerife. Food Chemistry. 73(2):153-161.
- 12- Leifert, C.; J. Y. Ritchie and M. W. Waites (1991). Contaminants of plant tissue and cell cultures. World Journal of Microbiol and Biotechnol. 7, 452–469.

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



DOI: <https://doi.org/10.65814/ijar.2023.27.1.42>

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

S. S. Hussein¹

A. A. Matrood¹

M. H. Abass¹

E-mail: abdu1988875@yahoo.com

© 2023 Directorate of Agricultural Research, Ministry of Agriculture. This is an open access article under the CC by Licenses <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



ABSTRACT

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

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

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

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

Received: February 14, 2023

Accepted: May 10, 2023