

Effect of some fungicides on *Verticillium dahliae* kleb. The causal agent of olive tree wilt disease.(in vitro)

Dr. Mohamed Tawil*
Dr. Basima Barhoum**
Khayam muhrez***

(Received 27 / 2 / 2020. Accepted 13 / 8 /2020)

□ ABSTRACT □

This study is carried out to evaluate the efficacy of three systemic fungicides against *Verticillium dahliae* kleb. the causal agent of olive wilt. Colony growth rate were recorded for 27 day and inhibition percentages compared to control were calculated. Experience shows that all tested fungicides had an inhibitory effect on the mycelial growth of *V.dahliae*. hexaconazole caused higher inhibition of the pathogen growth 100% ,100% , 88.94% by the concentrations 1000, 100, 10 ppm respectively, followed by azoxystrobin 79.32% by the concentrations 1000 ppm, whereas fosetyl-aluminium inhibited the pathogen growth 100% , 81.79% at the concentration 5000 , 2000 ppm. This revealed data indicate that this fungicides has potential efficacy in controlling the wilt olive by inhibiting the mycelial growth of the pathogen *V. dahliae*, so There is a need to confirm that efficacy in the field.

Keywords: Olive – *Verticillium* wilt – Fungicide – *Verticillium dahliae*.

* Professor. Plant Protection Department. Faculty of Agriculture. Tishreen University. Latakia. Syria.
**Researcher. General Commission for Scientific Agricultural Research.
***Postgraduate Student (Ph.D.) Faculty of Agriculture. Tishreen University. Latakia. Syria. E MAIL:
khayam.m@tishreen.edu.sy

تأثير بعض المبيدات الفطرية في نمو الفطر *Verticillium dahliae* kleb. المسبب لمرض الذبول على أشجار الزيتون. (دراسة مخبرية)

د. محمد طويل*

د. باسمه برهوم**

خيّام محرز***

(تاريخ الإيداع 27 / 2 / 2020. قبل للنشر في 13 / 8 / 2020)

□ ملخّص □

أُجريت هذه الدراسة المخبرية بهدف تقييم كفاءة استخدام ثلاثة مبيدات فطرية وتأثيرها على نمو الفطر *Verticillium dahliae* kleb المسبب لمرض ذبول فرتيسليوم على الزيتون. سُجّلت سرعة نمو المستعمرة خلال 27 يوم وقُدّرت نسبة تثبيط نمو الفطر. بينت التجربة إلى أن جميع المبيدات المستخدمة أثبتت فعاليتها في خفض نمو الفطر الممرض، وأخذ المبيد hexaconazole المرتبة الأولى في فعالية التثبيط عند التراكيز 1000، 100 و 10 ppm إذ بلغت نسبة التثبيط 100%، 100%، 88.94% على التوالي تلاه المبيد azoxystrobin بالتركيز 1000 ppm حيث تم تثبيط نمو الفطر بنسبة 79.32% في حين كانت نسبة تثبيط المبيد fosetyl- 100 aluminium ، 81.79% على التوالي للتركيزين 5000، 2000 ppm. تبشر هذه النتائج بإمكانية وجود فعالية لهذه المبيدات في مكافحة مرض ذبول الزيتون من خلال التأثير في نمو فطر الذبول فرتيسليوم وهذا يحتاج إلى تأكيد دورها وفعاليتها حقلياً.

الكلمات المفتاحية: زيتون_ ذبول فرتيسليوم _ مبيد فطري_ *Verticillium dahliae*

*أستاذ - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية
**باحثة - الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - مركز بحوث اللاذقية-سورية
***طالب دراسات عليا (دكتوراه)- كلية الزراعة-جامعة تشرين- اللاذقية- سورية

مقدمة

يعد الزيتون *Olea europaea* L. مورداً طبيعياً متجدداً وخياراً زراعياً واستراتيجياً هاماً في بلدان حوض المتوسط ويعزى ذلك إلى القيمة الغذائية العالية بالإضافة إلى الخواص العلاجية والمضادة للأكسدة لزيت الزيتون (Colella *et al.*, 2008). تؤكد الدراسات أن الموطن الأصلي لشجرة الزيتون هي سورية ومنها انتشرت هذه الزراعة إلى بقية بلدان حوض المتوسط (Zohary and spigel-roy, 1975). تحتل سورية المركز الأول عربياً في عدد الأشجار، والمركز الخامس عالمياً على مستوى الإنتاج والمساحة حيث بلغت المساحة المزروعة 755278 هكتار في عام 2017 (FAO, 2017). تُصاب شجرة الزيتون بعدد من الأمراض والآفات التي تؤثر في الإنتاج كماً ونوعاً، ويعتبر مرض ذبول الزيتون Olive Wilt المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* kleb. ساكن التربة من الأمراض الهامة التي تهدد شجرة الزيتون في بلدان حوض المتوسط ويؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة، حيث أن هذا المرض يمكن أن يسبب موت الأشجار في حالات الإصابة الشديدة (López-Escudero and Blanco-López, 2007).

أهمية المرض وأعراض الإصابة على الزيتون:

تأتي أهمية هذا المرض من قدرته على تشكيل الجسيمات الحجرية، التي تتمتع بالاحتفاظ بحيويتها لسنوات عديدة، إذ تعد مصدر العدوى الأولية للمرض بالظروف الطبيعية، تنتش الجسيمات الحجرية وتعطي هيفا فطرية تخترق جذور شجرة الزيتون وتنمو باتجاه الأوعية الخشبية وينتج عنها ميسليوم وحوامل بوغية، ينشأ الانسداد في الأوعية الناقلة الخشبية بسبب تجمع ميسليوم الفطر ومواد ناتجة عن تحلل جدر الأوعية الخشبية، وكذلك نتيجة لالتصاق خيوط الممرض بتلك المواد، ويضاف إلى ذلك تتشكل بعض المركبات الفينولية (كيرسييتين، وتيولين أو روتين) المتوفرة في الزيتون، التي تلعب دور phytoanticipins و/أو phytoalexins كوسيلة من آليات دفاع الزيتون إزاء الممرض في خلايا الخشب مما يؤدي إلى حدوث إعاقة في انتقال الماء (Keykhasaber *et al.*, 2018)، ونتيجة لهذا الإعاقة تبدأ الأعراض على شجرة الزيتون بالظهور بشكل ذبول بطيء للأوراق ومن ثم اصفرارها وتساقطها بشكل تدريجي بدءاً من الأفرع العلوية في أحد جهات الشجرة ثم ينتقل ليعم كافة أجزائها ويترافق ذلك غالباً مع ظهور أعراض وعائية تتمثل بتلون الأوعية الناقلة باللون البني ويسبب انسداد الأوعية الناقلة تدهور الأشجار المصابة وموتها (Blanco-lopez *et al.*, 1984).

وفي سورية سُجل المرض لأول مرة عام 1983 من قبل Al-Ahmad and Mosli (1993)، ازداد انتشار مرض ذبول الزيتون في العقود الماضية (Barhoum, 2012; Allaf *et al.*, 2016) بسبب استخدام أترية ومواد إكثار نباتية ملوثة بالفطر، والانتشار الواسع للعزلات عالية الشراسة من الفطر المسبب، والمدى العوائلي الواسع، ومثابرة الجسيمات الحجرية *Microsclerotia* في التربة لفترات طويلة قد تصل لـ 10 سنوات، بالإضافة لانخفاض فعالية المبيدات الفطرية بسبب صعوبة التأثير على الفطر داخل الأوعية الخشبية للنبات، كما أن معظم أصناف الزيتون الإنتاجية هي حساسة أو عالية الحساسية للإصابة بالفطر الممرض (López-Escudero and Mercado-) (Blanco, 2011).

تم اختبار تأثير بعض المبيدات المستخدمة في مكافحة هذا المرض ومن أهم المبيدات التي أثبتت فعاليتها مخبرياً هو المبيد الفطري thiophanate-methyl، إذ لاحظ Bubicci ورفاقه عام 2019 من خلال تجربة أن الفعالية جيدة في تثبيط نمو الفطر مخبرياً *V.dahliae* (ميكروغرام/مل $EC_{50}=0.006$)، كما أنه أعطى نتائج جيدة في مكافحة مرض ذبول البطاطا حقلياً حيث خفضت الجرعة 1.2 لتر/هكتار دليل شدة الإصابة من 3.3 إلى 2.3، يوصي Vossen ورفاقه 2007 بحقن جذوع أشجار الزيتون المصابة بمرض الذبول ببعض المبيدات الفطرية مثل dodine , benomyl , fosetyl-al . قام MULE ورفاقه عام 2002 بحقن 120 مل محلول مائي لكل من المبيد fosetyl-aluminium (بالتراكيز 120 غرام/لتر) والمبيد benomyl (بالتراكيز 24 غرام/لتر) في جذوع أشجار الزيتون فلاحظ اختفاء أعراض الإصابة بمرض الذبول على أشجار الزيتون المعاملة بالإضافة إلى ظهور نمو خضري جيد على الأشجار المعاملة بنهاية التجربة، كما وجد Hallak في عام 1997 أن حقن شجرة الزيتون المصابة بالذبول بالمبيد الفطري كريندازيم قد خفّض من انتشار الإصابة في الشجرة. استخدم Arici و Demirtas (2019) مزيج بورديو Bordeaux mixture بالتراكيز 2% رشاً على أشجار الزيتون المصابة بمرض الذبول مع ري التربة بـ 10 لتر/م² حيث أعطى فعالية 43% ارتفعت إلى 62% عند مشاركته مع المبيد الحيوي Harpin protein الذي أدى إلى تنشيط نسيج الخشب وتنشيط آليات دفاع العائل تجاه الكائن الممرض. وجد crowe و parks (2000) التأثير الفعال للمبيدات الفطرية azoxystrobin – tuboconazole – benomyl – cuprodimil حيث تثبط جميعها نمو الميسليوم الفطري، وتراوحت الجرعة التي خفضت نمو الفطر بنسبة 50% (EC_{50}) بين 0.001 و 0.261 غرام مادة فعالة/ليتر.

استنتج Jabnoun-Khiareddine ورفاقه (2015) وجود أثر تثبيطي لكل من Chitosan و Salicylic acid على الفطر *V.dahliae* مخبرياً ضمن أطباق بتري حيث بلغت نسبة التثبيط للتركيز 4 مغ/مل من Chitosan 63.82% كما بلغت نسبة التثبيط للتركيز 10 ميلي مول من Salicylic acid 100%.

اختبر Gálvez و Jurado (2018) نوعين من معقمات مياه الري OX-VIRIN و OX-AGUA لمكافحة الفطر *V.dahliae* في تربة أصص غراس الزيتون والملوثة بالجسيمات الحجرية للفطر *V.dahliae* تحت ظروف البيت الزجاجي حيث أعطت هذه المعقمات فعالية 43.4% في خفض كثافة الجسيمات الحجرية في تربة الأصص وفي ماء الري المستخدم. وأشار Pegg و Brady (2002) إلى فعالية استخدام مدخانات التربة بالتشارك مع التعقيم الشمسي للتربة قبل الزراعة حيث ساهمت هذه الطريقة في خفض كمية اللقاح من الجسيمات الحجرية في وسط الزراعة. قام Yellareddygaru و Gudmestad (2018) بحقن ميثام الصوديوم Metam Sodium 42% مرة واحدة بجرعة 373 ليتر/هكتار في تربة مزروعة بالبطاطا وعلى عمق 25 سم حيث أدى ذلك إلى خفض كثافة الجسيمات الحجرية للفطر *V.dahliae* في كل غرام من أنسجة الساق إلى 15927 مقارنة مع 23870 لدى الشاهد غير المعامل وذلك تحرر غاز Methyl isothiocyanate القاتل للمكروبات كما أدت لزيادة الغلة الكلية من درنات البطاطا إلى 51 الف طن/هكتار مقارنة مع 48 الف طن/هكتار لدى الشاهد غير المعامل. قام Cebolla ورفاقه (2004) باستخدام عدة أنظمة من تعقيم التربة لمكافحة الأجسام الحجرية مثل التطبيق الناجح لـ 1,3-dichloro propene بتركيز 18 غ/م² ثم يُتبع بـ ميثام الصوديوم بتركيز 72 غ/م².

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لخطورة المرض وماسوف يسببه من خسائر اقتصادية على محصول الزيتون في سورية، فقد هدف هذا البحث الى اختبار فعالية بعض المبيدات الفطرية على نمو ميسليوم لعزلة الفطر *V.dahliae* المسبب لمرض ذبول الزيتون.

طرائق البحث ومواده:

عزل الفطر الممرض *V.dahliae* :

تم إجراء الاختبار في محطة أبحاث السن التابع للمركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (ACSAD)، جمعت عينات من أغصان أشجار زيتون تبدي أعراض إصابة ظاهرية بمرض الذبول من مناطق مختلفة من محافظتي حماة (تل التوت في السلمية والشهيب) واللاذقية (الدروقيات) في سورية، غسلت العينات المصابة بالماء المقطر لمدة 10 دقائق وجففت على ورق ترشيح للتخلص من الماء الزائد، قطعت إلى قطع صغيرة بأبعاد 0.5 سم، غمرت بعدها بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم التجاري (2% لمدة 3 دقائق)، ثم غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم وجففت باستخدام ورق الترشيح، زرعت 3 قطع منها في طبق بتري يحتوي على الوسط الغذائي PDA Potato Dextroz Agar مضافاً له المضاد الحيوي Cefazolin بتركيز 100 مغ/ليتر مستنبت PDA، حضنت بعدها الأطباق ضمن حاضنة في الظلام على حرارة 25 ± 2 °س لمدة 7 أيام، ثم نقيت العزلة الفطرية بأخذ طرف خيط من حافة مستعمرة حديثة وزرعت في أطباق بتري جديدة تحتوي على الوسط PDA ثم حضنت الاطباق على حرارة 25 ± 2 °س لمدة 7 أيام. تم تحديد الفطر اعتماداً على المفتاح التصنيفي المعد من قبل smith (1965) بما يتعلق بالصفات المورفولوجية (التفرع السواري للحوامل البوغية) المميزة للجنس *Verticillium* بالإضافة إلى تشكيل الجسيمات الحجرية كصفة مميزة للنوع *V.dahliae*، تم تحضير عزلات وحيدة البوغة من الفطر اعتماداً على طريقة طرف الهيفا من مستعمرة حديثة بعمر 7 أيام، تم اختيار عدد من العزلات ممثلة للمناطق المدروسة وإجراء اختبار قدرتها الإمراضية، اعتمدت العزلة الممثلة لمحافظة حماة التي تميزت بقدرة إمراضية عالية وسرعة نمو متوسطة وبيدأ تشكل الجسيمات الحجرية باليوم الـ 12، وبنسبة تغطية بالجسيمات الحجرية عالية (أكثر من 50 % من الطبق).

تقييم فعالية المبيدات الفطرية مخبرياً:

تم في هذه الدراسة اختبار فعالية كل من المبيدات الفطرية التالية : hexaconazole و azoxystrobin (بالتراكيز 0.1 - 1 - 10 - 100 - 1000 جزء في المليون ppm مادة فعالة)، fosetyl-aluminium (بالتراكيز 100 - 1000 - 2000 - 5000 ppm) جدول رقم (1). حضرت محاليل المبيدات في الماء ابتداءً من التركيز الأعلى ثم بواسطة سلسلة من التخفيفات للوصول إلى التراكيز المطلوبة في البيئة النهائية، أُضيفت محاليل المبيدات السابقة إلى بيئة الـ PDA المعقمة مسبقاً بالأوتوكلاف (20 دقيقة على الدرجة 121 °س) عند وصول حرارتها للدرجة 50 °س، كما أُضيف إليها بنفس الوقت المضاد الحيوي Cefazolin بتركيز 100 مغ/ليتر، صُنبت البيئة بمقدار 15 مل في أطباق بتري (قياس 9 سم)، احتوت المعاملة الواحدة على 3 مكررات حيث المكرر الواحد عبارة عن 2 طبق بتري، زرع في مركز كل طبق (بعد تصلب البيئة) قرص ميسليوم بقطر 5 مم أخذ بواسطة الثاقب الفليني من حواف مستعمرة نقية للفطر *V.dahliae* بعمر 7 أيام، كما تم معاملة أطباق الشاهد بنفس الطريقة مع فارق عدم وجود مبيد

واستخدام الماء المقطر عوضاً عنه، وُضِعَت الأطباق في حاضنة على حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$. أُخِذت قراءات قطر النمو لمستعمرة الفطر *V. dahliae* بالدم لأطباق المعاملات والشاهد على فترات: 7 أيام - 13 يوم - 21 يوم - 24 يوم - 27 يوم بعد الزرع ثم تم حساب نسبة التثبيط لكل تركيز من تراكيز المبيدات الفطرية المختبرة باستخدام المعادلة التالية: (Vincent, 1947)

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = 100 \times \frac{\text{النمو في الشاهد} - \text{النمو في المعاملة}}{\text{النمو في الشاهد}}$$

جدول (1) المبيدات الفطرية المختبرة ضد فطر *v. dahliae* مخبرياً:

| المادة الفعالة | الاسم التجاري | المجموعة الكيميائية | التراكيز المختبرة (ppm) |
|------------------------------------|----------------|------------------------|-------------------------|
| Hexaconazole 5% | CONAZOL TOP | Triazole | 0.1-1-10-100-1000 |
| Azoxystrobin 250 g.l ⁻¹ | LACERTA 250 SC | Strobilurins | 0.1-1-10-100-1000 |
| fosetyl-aluminium 80% | MUSTANG | Phosphoric derivatives | 100-1000-2000-5000 |

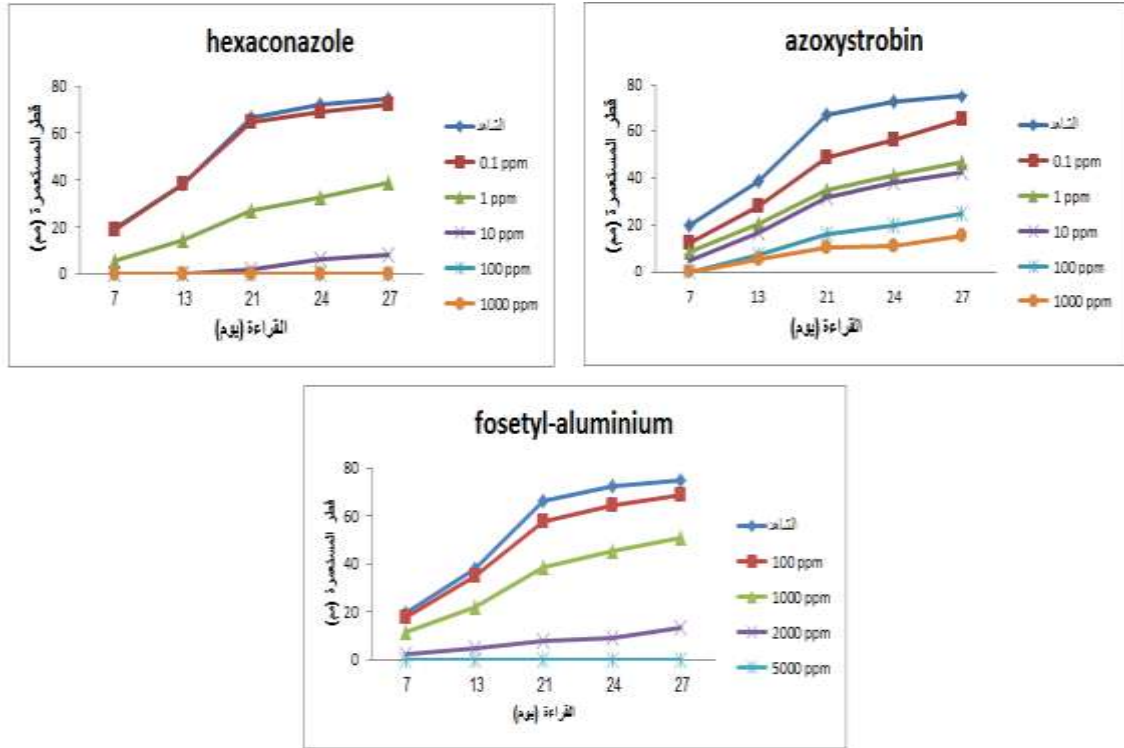
حُلَّت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Genstat 12th Edition وفق نموذج التجارب العاملية باستخدام التصميم العشوائي الكامل وتم مقارنة قيم المتوسطات الحسابية باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (l.s.d) واختبار دنكن (Duncan) عند مستوى احتمال 0.01

النتائج والمناقشة:

أظهرت جميع المبيدات المختبرة في هذه الدراسة فعاليتها في انخفاض نمو الفطر *V. dahliae* مخبرياً عند غالبية التراكيز المستخدمة مقارنة بالشاهد جدول (2) والشكل (1):

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة من المبيدات الفطرية المدروسة في نمو مستعمرة الفطر *verticillium dahliae* (مم) على المستنبت PDA

| نسبة التنشيط % | ترتيب المعنوية حسب دنكن | الزمن (يوم) | | | | | التركيز ppm | المعاملة |
|----------------|-------------------------|-------------|------|------|------|------|-------------|-------------------|
| | | 27 | 24 | 21 | 13 | 7 | | |
| - | i74.58 | 74.58 | 72.8 | 66.4 | 38.3 | 19.6 | | الشاهد |
| 100.00 | a 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1000 | Hexaconazole |
| 100.00 | a 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | |
| 88.94 | b 8.25 | 8.25 | 6.3 | 1.8 | 0 | 0 | 10 | |
| 47.71 | e 39 | 39 | 32.6 | 26.8 | 14 | 5.6 | 1 | |
| 3.46 | i 72 | 72 | 69.9 | 64.9 | 37.9 | 18.2 | 0.1 | |
| 79.32 | c 15.42 | 15.42 | 11.3 | 10.6 | 5.3 | 0 | 1000 | Azoxystrobin |
| 66.59 | d 24.92 | 24.92 | 19.6 | 16.1 | 7.3 | 0 | 100 | |
| 42.91 | ef 42.58 | 42.58 | 38.2 | 31.7 | 16.8 | 4.8 | 10 | |
| 37.21 | fg 46.83 | 46.83 | 40.8 | 34.9 | 20.5 | 8.3 | 1 | |
| 13.62 | h 64.42 | 64.42 | 56.3 | 48.5 | 27.7 | 12.3 | 0.1 | |
| 100.00 | a 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5000 | fosetyl aluminium |
| 81.79 | bc 13.58 | 13.58 | 10.4 | 8.1 | 5 | 2.6 | 2000 | |
| 31.62 | g 51 | 51 | 45.6 | 38.8 | 22.2 | 11.4 | 1000 | |
| 8.26 | hi 68.42 | 68.42 | 65.2 | 57.8 | 35.1 | 17.9 | 100 | |
| | | 6.237 | | | | | | l.s.d |

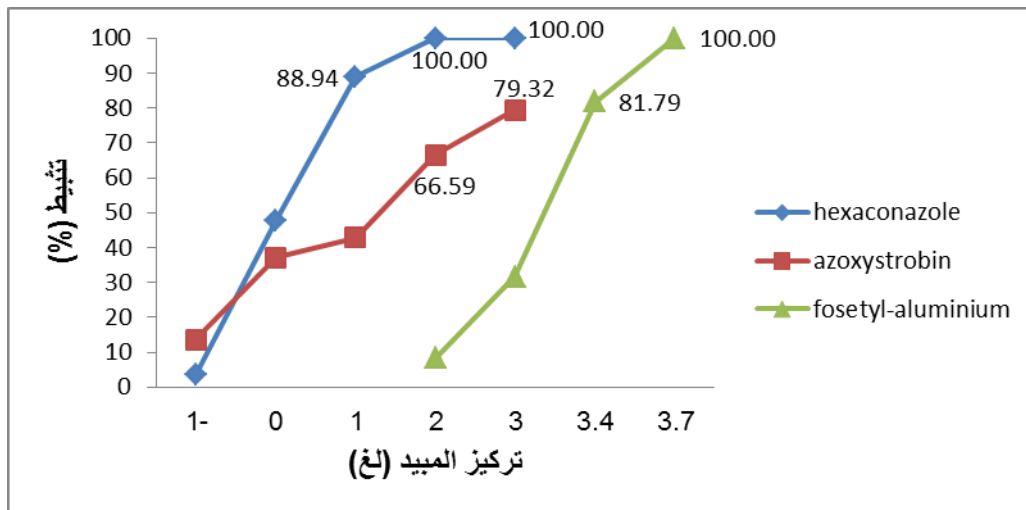


شكل (1) قطر مستعمرة الفطر *V. dahliae* بتأثير تراكيز مختلفة من المبيدات hexaconazole و azoxystrobin و fosetyl aluminium مقارنة مع قطر مستعمرة الفطر في الشاهد خلال مراحل التجربة.

لوحظ وجود فروق معنوية ما بين الشاهد وجميع المعاملات المدروسة بعد 27 يوماً من الزراعة، حيث تصدر المبيد hexaconazole المرتبة الأولى في فعالية التأثير في الممرض، عند التراكيز 100 و 10 و 1000 ppm فكان الأكثر تأثيراً بدرجة معنوية مع التراكيز الأخرى إذ بلغ نمو مستعمرة الفطر *V. dahliae* بعد 27 يوم من الزراعة 8.25 مم للتركيز 10 ppm مقارنة مع 74.58 مم لمعاملة الشاهد ومنع هذا المبيد نمو الفطر بشكل كامل (تثبيط 100%) عند التركيزين 100 و 1000 ppm. في حين أضاف Parks و Crowe (2011) تراكيز مختلفة من المبيد azoxystrobin ، cyprodinil ، benomyl ، tebuconazole إلى بيئة PDA من أجل اختبار تأثيره في نمو ميسيليوم الفطر *V. dahliae* تدرجت الجرعة المؤثرة من المادة الفعالة والتي تعطي نسبة تثبيط 50% في نمو ميسيليوم الفطر ما بين 0.001 و 0.261 غرام مادة فعالة /لتر مما يفيد بالأمر أن كلاً من المبيد tebuconazole والمبيد hexaconazole ينتميان إلى مجموعة Triazole التي تعمل على نزع مجموعة الميثيل (DMI) وتمنع تخليق الستيرويدات (Sterols) الهامة جداً من أجل الغشاء الخلوي للخلية الفطرية (McCoy *et al.*, 2004). يلي المبيد hexaconazole في التأثير المبيد azoxystrobin من حيث الفعالية في خفض نمو الممرض إذ ترواح متوسط نمو المستعمرة ما بين 15.42 مم إلى 64.42 مم بعد 27 يوم من الزراعة مقارنة مع الشاهد 74.58 مم، كما بلغت أعلى نسبة تثبيط عند التركيز 1000 ما يعادل 79.32%، تفسر فعالية هذا المبيد كونه يتبع مجموعة Strobilurins وهو مبيد فطري جهازي واسع الطيف، يُنَبِّط إنتاج الأبواغ ونمو الميسيليوم لعدة مسببات فطرية وخصوصاً الأسكية والناقصة والبيضية، آلية عمله تتمثل بتثبيط التنفس في ميتوكوندريا الخلية الفطرية بوقف انتقال الالكترونات في السيتوكروم bc1 ويمنع إنتاج الطاقة مؤدياً إلى موت سريع للخلية الفطرية (McCoy *et al.*, 2004). يأتي المبيد fosetyl

aluminium في المرتبة الأخيرة بين المبيدات المختبرة في كبح نمو الممرض إذ بلغ متوسط نمو المستعمرة عند التركيز 2000 ppm 13.58 مم بنسبة تثبيط وصلت إلى 81.79% ومنع نمو الفطر بشكل كامل عند التركيز ppm 5000 وهذا يتوافق مع Mannai وآخرون (2018) الذي استنتج أن المبيد fosetyl aluminium فعال مخبرياً عند التراكيز المرتفعة حيث ثبت نمو أبواغ الفطر *fusarium oxysporium* بنسبة 94.59% عند التركيز ppm 2000، كما استنتج أن فعالية المبيد فوستيل الالمنيوم منخفضة مخبرياً عند التراكيز 50 و 100 ppm. هذا ويعمل المبيد fosetyl aluminium على تحفيز استجابة سريعة تجاه الممرضات المهاجمة للنبات من خلال نظام الدفاع الديناميكي للنبات حيث تم إثبات ذلك من خلال تسارع زيادة الفيتوالكسينات في النباتات المعاملة بالمبيد (Guest, 1984).

تتوافق هذه النتائج مع عديد من الدراسات التي أشارت إلى فعالية بعض المبيدات في التأثير على الممرض، فقد وجد Sener ورفاقه (2003) أن المبيدات prochloraz و prochloraz manganese complex، قد ثبتا مخبرياً نمو عزلات مختلفة من الفطر *V.dahliae* التي تصيب نبات القطن حيث كانت ED50 0.2 و 0.5 ميكروغرام مل⁻¹ على التوالي، كما وجد أن هذين المبيدين لهما نفس التأثير في الظروف الحقلية عند استخدامها بتراكيز عالية.



شكل (2) العلاقة بين نسبة التثبيط (%) وتركيز المبيد كقيمة لوغاريتمية بالنسبة للمبيدات الفطرية *fosetyl aluminium - azoxystrobin - hexaconazole*

يبين الشكل (2) وجود علاقة طردية ما بين نسبة التثبيط والتركيز المستخدم بالنسبة لجميع المبيدات إذ كلما ازداد التركيز ازدادت نسبة التثبيط فقد كانت منخفضة عند التركيز 0.1 ppm ثم ارتفعت إلى أن وصلت إلى 100% عند التركيز 1000 ppm بالنسبة للمبيد hexaconazole. سلكت المبيدات الأخرى نفس المنحنى، إذ بلغت نسبة التثبيط للمبيد azoxystrobin عند التركيز 0.1 ppm 13.62% تدرجت طردياً بزيادة التركيز إلى أن وصلت إلى 79.32% عند التركيز 1000 ppm جدول (2) وشكل (2). تتفق هذه النتائج مع أغلب الباحثين في بيان كفاءة المبيدات الفطرية الجهازية حيث أن بعضها يمنع تكوين الجدر الخلوية الحديثة فتسبب انتفاخ نهايات الخيوط الفطرية وتلفها وبعضها يثبط تخليق الحامض النووي وبناء البروتين (McGrath, 2004). على كل حال إن المنع الذي لوحظ

في التجربة المخبرية لا يعني جازماً أن يلاحظ نفس التأثير في الحقل، إذ أن طبيعة المرض وبيولوجيا الفطر يمكن أن تلعب دوراً هاماً في مقاومة المبيدات (Dekker, 1986). لذلك وللتنبؤ بفعاليتها يجب اختبارها حقلياً، ودراسة قدرتها في التأثير على المرض وتطوره.

الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- أظهرت المبيدات المختبرة hexaconazol و azoxystrobin و fosetyl aluminium فعالية في تثبيط نمو الفطر *V. dahliae* kleb.
- 2- تصدر المبيد hexaconazol المبيدات الأخرى في التأثير على الفطر الممرض يليه مبيد azoxystrobin ثم fosetyl- aluminium.
- 3- اختلفت المبيدات في تأثيرها تبعاً للتركيز، وعموماً التراكيز العالية هي التي كانت الأكثر فعالية.
- 4- أثر المبيد hexaconazol في نمو الفطر بالتراكيز الدنيا مقارنة بالمبيدات الأخرى التي احتاجت تراكيز عالية للتأثير، وهذا يفيد في تخفيف الأثر البيئي الملوث للمبيدات وكناحية اقتصادية.
- 5- يوصى بتقييم هذه المبيدات المختبرة حقلياً في تأثيرها على المرض وعلى النبات.

Reference:

1. Allaf, I. ; Matar, M. and Deeb, M. *Survey of Verticillium wilt disease on olive trees in Latakia*. Tishreen university journal for research and scientific studies- biological sciences Series vol. 38, NO. 5, 2016, 137-150.
2. Al-Ahmad, M.A. and Mosli, M. N. *Verticillium wilt of olive in Syria*. EPPO Bulletin, Vol. 23, 1993, 521-529.
3. Arici, S. E. and Demirtas, A. E. *The effectiveness of rhizosphere microorganisms to control Verticillium wilt disease caused by Verticillium dahliae Kleb. in olives*. Arabian Journal of Geosciences, Vol. 12, N. 24, 2019, 781.
4. Barhoum, B. *The Use of Biotechnology Tools to Study the Genetic Variation within Wild Olive Population and the Wilt Pathogen Verticillium dahliae Kleb and their Interaction in Syria*. PhD Thesis, Aleppo University, Syria, 2012, 160.
5. Blanco-López, M.A. ; Jiménez-Díaz, R. M and Caballero, J. M. *Symptomatology, incidence and distribution of Verticillium wilt of olive trees in Andalucía*. PhytopatholMediterr, Vol. 23, 1984, 1-8.
6. Bubici, G.; Marsico; Gaber, A. D. L. and Tsror, L. *Evaluation of thiophanate-methyl in controlling Verticillium wilt of potato and artichoke*. Crop Protection, Vol. 119, N. (November 2018), 2019, 1-8.
7. Cebolla, V. ; Navarro, C. ; Miguel, A. ; Llorach, S. and Montfort, P. *the control of verticillium dahliae on artichokes by chemical and non-chemical soil disinfection methods*. Acta Hort. Vol. 660, 2004, 473-478.
8. Colella, C. C. ; Miacola, M. ; Amenduni, M. ; D'Amico, I. ; Bubici, G. ; and Cirulli, M. *Sources of verticillium wilt resistance in wild olive germplasm from the Mediterranean region*. Plant Pathology, Vol. 57, 2008, 533- 535.

9. Crowe, F. and Parks, R. *Fungicide Screening for Control of Verticillium Wilt of Peppermint*. Research Reports, Mint Industry Research. 2000, (5 January 2020). http://oregonstate.edu/dept/coarc/sites/default/files/publication/00peppermint_verticillium_wilt.pdf
10. DEKKER, J. *Preventing and managing fungicide resistance In: Fungicide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academy Press, Washington, DC, USA, 1986, 484.
11. FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Database. Rome, Italy, 2017, Retrieved at (30 November 2019) from <http://faostat3.fao.org/home/E>.
12. Gálvez-Gómez, F. J. and Rodríguez-Jurado, D. *Potential efficacy of soil-applied disinfectant treatments against Verticillium wilt of olive*. Crop Protection, Vol. 106, N. April, 2018, 190–200.
13. Guest, D. I. *Modification of defense responses in tobacco and Capsicum following treatment with fosetyl-Al [aluminium tris (o-ethyl lphosphonate)*. Physiol. Plant Pathology, Vol. 25, 1984, 125-134.
14. HALLAK, H. *Chemical control of olive wilt disease by tree injection and soil treatment*. Ph.D thesis, Tishreen University, 1997, 87.
15. Keykhasaber, M. ; Thomma, B. J. and Hiemstra, J. A. *Verticillium wilt caused by Verticillium dahliae in woody plants with emphasis on olive and shade trees*. European Journal of Plant Pathology, Vol. 150, N. 1, 2018, 21-37.
16. Khiareddine, H. J. and El-Mohamedy, R. S. *Variation in Chitosan and Salicylic Acid Efficacy Towards Soil-borne and Air-borne Fungi and Their Suppressive Effect of Tomato Wilt Severity*. Journal of Plant Pathology & Microbiology, Vol. 6, N. 11, 2015, (11).
17. López-Escudero, F. J. and Blanco-López, M. A. *Relationship between the inoculum density of Verticillium dahliae and the progress of Verticillium wilt of olive*. Plant Disease, Vol. 91, 2007, 1372–1378.
18. López-Escudero, F. J. and Mercado-Blanco, J. *Verticillium wilt of olive: A case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen*. Plant and Soil, Vol. 344, N. 1, 2011, 1-50.
19. Mannai, S. ; Horrigue-Raouani, N and Boughalleb-M'hamdi, N. *Effect of Six Fungicides against Fusarium oxysporum and F. solani associated with Peach Seedlings Decline in Tunisian Nurseries*. Annual Research & Review in Biology, Vol. 26, N. 4, 2018, 1-11
20. McCoy, C.W. ; Rogers, M.E. and Timmer, L.W. *Florida pest management guide: pesticide resistance and resistance management*. Document Vol. 624, N. 2004. (February, 2019). <http://edis.ifas.ufl.edu/CG026>.
21. McGrath, M.T. *What are fungicides*. 2004. (8 Mars 2019). <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Pages/Fungicides.aspx>
22. Mulè, R. ; Fodale, A. and Tucci, A. *Control of olive Verticillium wilt by trunk injection with different doses of fosetyl-Al and benomyl*. Acta horticulturae, Vol. 586, 2002, 761-764.
23. PEGG, G.F. ; BRADY, B.L. *Verticillium Wilts*. Cromwell Press, Trowbridge, United kingdom, 2002, 552.
24. Sener, K. ; Dervisa, S. and Sahinlerb, S. *Sensitivity of Verticillium dahliae to prochloraz and prochloraz–manganese complex and control of Verticillium wilt of cotton in the field*. Crop Protection, Vol. 22, 2003, 51–55
25. Smith, H. C. *The morphology of Verticillium alboatrum, V.dahliae and V. tricorpus*. Newzealand J. Agric. Res, Vol. 8, 1965, 450-478.

26. Vincent, J. M. *Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors.* Nature, Vol. 6, 1947, 159-850.
27. Vossen, B. ; Gubler, P. D. and Blanco, M. A. *Verticillium wilt of olive.* First Press Newsletter of Olive Oil production and Evaluation, Vol. 3, N. 4, 2008, 2-9.
28. Yellareddygar, S. K. R. and Gudmestad, N. C. *Effect of Soil Temperature, Injection Depth, and Rate of Metam Sodium Efficacy in Fine-Textured Soils with High Organic Matter on the Management of Verticillium Wilt of Potato.* American Journal of Potato Research, Vol. 95, N. 4, 2018, 413-422.
29. Zohary, D. and Spiegel-Roy, P. *Beginnings of fruit growing in the Old World.* Science, Vol. 187, 1975, 319-327.