

USING OF SOME CHEMICAL AND BIOCONTROL AGENTS TO CONTROL OF CUCUMBER ROOT ROT DISEASE CAUSED BY *Rhizoctona solani* Kuhn

استخدام بعض العوامل الكيميائية والاحيائية لمكافحة مرض تعفن جذور الخيار

المسبب عن الفطر *Rhizoctona solani* Kuhn

عهد عبد علي هادي مطلوب¹* كامل سلمان جبر² كوثر فاضل علوان³

جامعة الفرات الأوسط الكلية التقنية المسيد / قسم تقنيات المقاومة الاحيائية 2، كلية الزراعة جامعة بغداد/قسم وقاية النبات

المستخلص :

هدفت الدراسة إلى عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الخيار من النباتات المصابة التي جمعت من بعض حقول محافظة بابل واختبار فاعلية بعض عوامل المكافحة الاحيائية ضده تحت ظروف المختبر و الظلة الخشبية. أوضحت النتائج وجود مرض تعفن جذور الخيار في كافة عينات المناطق التي تم مسحها. وبينت نتائج العزل والتشخيص الحصول على أربعة عزلات من الفطر *Rhizoctona solani*. أظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر باستعمال بنذور اللهانة إن جميع العزلات سببت خفض معنوي بنسبة إنبات بنذور اللهانة وبتفوق معنوي للعزلة Rh2 إذ منعت إنبات البنذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها 100% كما سببت العزلات Rh2 و Rh1 خفضاً معنوياً بنسبة إنبات بنذور الخيار التي بلغت في معاملتها 0.0 و 16.7% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة 100%. واظهر الفطر *Trichoderma harzianum* فاعلية عالية ضد الفطر الممرض إذ حققت نسبة تثبيط 74.8% في حين منعت البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* نمو الفطر الممرض بالكامل وبنسبة تثبيط بلغت 100% كما سببت التراكيز المئوية من العالق البكتيري نسب تثبيط عالية للفطر الممرض بلغت 100% عند التركيز 10 ، 25 و 50% في حين بلغ قطر المستمرة عند التركيز 1% 0.67 و 1.0 سم للبكتيريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* على التوالي وبنسبة تثبيط بلغت 92.5 و 88.8% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي كان معدل نمو الفطر *Rhizoctona solani* عندها 0.9 سم ونسبة التثبيط صفر، أظهرت نتائج الظلة الخشبية ان جميع المعاملات المستعملة في المكافحة والتي شملت العامل الاحيائي *T. harzianum* والبكتيريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* أدت الى خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار و مقتربة من فاعلية المبيد الكيميائي Beltanol. كما ساهمت العوامل الاحيائية بمفردها الى زيادة طول النبات والوزن الطري والجاف قياساً بمعامل المقارنة بدون الفطر الممرض. يتضح من النتائج أعلاه إمكانية استعمال عوامل حيوية أمينة للبيئة في مكافحة تعفن جذور الخيار المسبب عن الفطر *R. solani* للحد من استعمال المبيدات الكيماوية والأضرار الناجمة عنها.

Abstract:

This study aimed to isolate and identify the pathogen of cucumber root rot disease from Babylon fields. And to test the activity of some biocontrol agents against it under laboratory and lath house conditions . The results showed the presence of cucumber root rot disease in all surveyed districts of Babylon region. The results of Isolation and identification showed the presence of 4 isolates of *Rhizoctonia solani* fungus, the test of pathogenicity for isolates showed that all isolates caused a significant reduction of cabbage seed germination percentage, most isolates of *R. solani* Rh2 were pathogenic and prevent seed germination completely compared to control 100 %. also the Rh 2 and Rh1 isolates affected on cucumber seed germination which was 0.0 and 16.7% respectively compared to control 100%. *Trichoderma harzianum* had high antagonistic ability to the *R. solani* with inhibitory rate 74 .8 % whereas, the *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* bacteria prevented growth of fungus completely, results showed the concentrations of bacterial suspension caused high antagonistic ability against pathogen giving 100 % in 10 , 25 , and 50 % whereas, the 1% concentration was affective on fungal radial growth to 0.67 and 1.0 cm for *P. fluorescens* and *B. subtilis* respectively and inhibition rate was 88.8 and 92.5% respectively. The results showed that all biocontrol agents treatments which were included *T. harzianum* and the *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* bacteria caused significant reduction of disease incidence and severity of cucumber root rot under lath house conditions and closed to Beltanol fungicide activity. On the other hand, all biocontrol agents which added alone to plant caused a significant increase in plant height, wet and dry weight compared to control without pathogen. These results appeared that the ability to use the biocontrol agent to cucumber root rot caused by *Rhizoctona solani* Kuhn as alternative method to reduce using and damages of chemical fungicides.

المقدمة:

يعد محصول الخيار *Cucumis sativus* L. من المحاصيل الاقتصادية المهمة والمرغوبة في العراق وهو من محاصيل العائلة القرعية *Cucurbitaceae* [1] ، بلغت المساحة المزروعة بالمحصول لعام 2010 بـ 188400 دونم وكان الانتاج طن 431900 [2] ، رافقت زراعة نبات الخيار ظهور العديد من الأمراض و يأتي في مقدمتها موت البادرات وتعفن الجذور المتسببة عن أحياء التربة الممرضة كالفطريات والتي تعد من اخطر المرضيات كونها تتوارد في التربة التي تحكم بينهما علاقات متداخلة ومعقدة مع البيئة المحيطة بها [3] ، ومن أهم الأمراض الفطرية هو مرض تعفن الجذور وسقوط البادرات واهتمام الفطريات التي تسبب هذا المرض هو الفطر *Rhizoctonia solani* الذي يعد مسبب رئيس للمرض في العديد من دول العالم وله مدى عائلي واسع [4]. التجاعيد من الباحثين والمختصين بأمراض النبات للبحث عن طرائق بديلة للمكافحة الكيميائية نتيجة للأضرار التي أحذتها المبيدات وسوء استعمالها ظهرت المكافحة الإحيائية كإحدى أهم البديل المطروحة [5، 6، 7]. تعد المكافحة الإحيائية طريقة متخصصة في تأثيرها في مسببات الأمراض النباتية كما إنها طريقة آمنة لا تسبب تلوث البيئة ولا تحدث أي خلل بالموازنة الطبيعية للأحياء كما تفعل المبيدات [4، 8]. ومن الوسائل الحيوية التي استخدمت لمكافحة المرضيات النباتية هو استخدام الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور واستغلال نشاطاتها ضد مسببات الأمراض الفطرية [9، 10] ، وتعيش بعض الكائنات الحية الدقيقة ذات القراءة التضادية في الترب ذات الإعاقة الذاتية أو الكابحة (*suppressive soil*) للمرضيات النباتية ومن هذه الكائنات فطر *Gliocladium* و *Bacillus* وبكتيريا *Pseudomonas* وبكتيريا *Trichoderma* إضافة إلى كائنات أخرى [11، 12، 13] وهناك ما يعرف ببكتيريا الجذور المشجعة لنمو النبات *Plant growth promoting rhizobacteria* التي تمتلك وسائل ميكانيكية للسيطرة الحيوية على الأمراض النباتية منها التنافس على الأوساط الغنية بالمواد الأولية وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من المسببات المرضية وإنتاج مضادات حيوية [14، 15]. كما نال الفطر *Trichoderma harzianum* اهتماما كبيرا في مجال المكافحة الإحيائية للعديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطر *R. solani* وذلك لتتمتع بخصائص عدة جعلته من أكثر وأشهر انواع الجنس استخداما [12، 13] وإضافة إلى ما يملكه الفطر من كفاءة تضادية عالية وبائيات متعددة ضد العديد من المسببات المرضية وتشجيعه لنمو النبات فإنه يتميز بسهولة عزله وسرعة نموه وتكاثره وامكانية تنميته وتحميده على اوساط غذائية رخيصة الثمن وتواجده في معظم انواع الترب والبقاء فيها لمدة طويلة [16، 17]. ونظرا لأهمية هذا المرض ولقلة الدراسات حوله وكمحاولة لتقديم كفاءة بعض عوامل المكافحة الإحيائية ضد مسببات المرض وإدخالها في برامج المكافحة الإحيائية كبدائل للمبيدات الكيميائية هدفت الدراسة الى اختبار كفاءة بعض عوامل المكافحة الإحيائية ومنها الفطر *Trichoderma harzianum* وبعض انواع البكتيريا والمبيد الكيميائي بلتلاؤل في تضادها مع الفطر المرض.

المواد وطرق العمل:

تحديد نسبة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار وعزل وتشخيص الفطر المسبب للمرض

تم جلب نماذج نباتات الخيار من بعض المناطق السدة، البدعة، طريق ابو الجاسم، الطاهرية في محافظة بابل للمدة ما بين 9/10/2012 ولغاية 21/10/2012 (جدول 1) لتحديد نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور نباتات الخيار وتم اختيار أربع حقول ساحتها ما بين 2-3 دونم وفحصت النباتات السليمية والمصاببة الواقعة ضمن تقاطع الأقطار لكل حقل وتم حساب النباتات المصابة بالاعتماد على الأعراض الظاهرة والتي تمثلت باصفرار الأوراق وموت بعضها، ظهور تقرحات عند قاعدة الساق وتعفن الجذور وضعف النبات. وحسبت النسبة المئوية للإصابة لكل حقل باستخدام المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة}} \times 100\%.$$

الجدول 1: موقع و تاريخ اجراء المسح الحقل

رقم العينة	الموقع	مساحة الحقول دونم	تاريخ اخذ العينة
1	السدة	3	9/10/2012
2	البدعة	2	14/10/2012
3	طريق ابو الجاسم	2	16/10/2012
4	الطاهرية	3	21/10/2012

جلبت النباتات إلى المختبر في أكياس بولي الثيلين ووضعت في الثلاجة في درجة حرارة 4°C. في اليوم التالي غسلت الجذور بالماء الجاري لمدة نصف ساعة لإزالة الأتربة، ثم قطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5-1 سم وعفمت تعقيماً سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1% كلور حر لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بماء مقطر معقم لمدة 2 دقيقة ثم جففت بورق الترشيح المعقم. نقلت 4 قطع إلى أطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط الزرعي اكار السكروز والبطاطا Potato (PSA) sucrose agar (PSA) (200g ببطاطا، 10g سكروز، 20g اكار، 1Lتر ماء مقطر) والمضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250mg/Lتر بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121°C وضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1°C لمدة ثلاثة أيام وبعدها تم إجراء الفحص للتحري عن وجود الفطر Rhizoctonia وتنقيتها بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوٍ على الوسط الزرعي PSA حضنت الأطباق لمدة 4 أيام وبعدتها تم حفظ العزلات في أنابيب اختبار حاوية على تربة معقمة وأخرى حاوية على الوسط PSA.

تشخيص الفطر *R. solani*

شخص الفطر *R. solani*. *R. solani* بعد ظهور النموات الفطرية وذلك حسب الصفات المذكورة في المفاتيح التصنيفية المعتمدة [18، 19، 20].

تحضير لقاح عزلات الفطر *R.solani* بتحميله على بذور الدخن

حضر لقاح عزلات الفطر *R.solani* حسب طريقة Dewan [21] أذ استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لتحضير اللقاحات الفطرية. أخذت بذور الدخن وتم غسلها جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب ثم نفعت لمدة 6 ساعات بالماء بعد ذلك تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها ووضع 50g من البذور في دوراق زجاجية سعة 250ml وعقمت الدوارق في جهاز المؤصدة لمدة ساعة واحدة تركت الدوارق لتبرد ثم لقح كل دوارق بخمسة أقراص قطر 0.5 mm من الوسط الزرعي PSA الحاوية على نموات عزلات الفطر *R.solani*، حضنت الدوارق في درجة حرارة 25 ± 1°C لمدة 15 يوماً مع رج الدوارق كل 3 أيام لضمان التهوية وتوزيع الفطر على جميع البذور.

اختبارات القدرة الإмарاضية

اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر *R. solani*. *R. solani* باستعمال بذور اللهانة

تم اختبار القدرة الإماراضية لأربع عزلات *R. solani* = Rh1 = عزلة منطقة السدة، *R. solani* = Rh2 = عزلة منطقة البدعة، *R. solani* = Rh3 = عزلة منطقة أبو الجاسم، *R. solani* = عزلة منطقة الطاهرية (من الفطر *R. solani* حسب طريقة Butler و Bolkan [22]) وذلك بتحضير أطباق بتري قطرها 9 سم حاوية على 15-20 ml من الوسط الزرعي الأكار المائي Water agar (المحضر من 20g اكار في لتر من الماء المقطر) المعقم بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121°C لمدة 15 دقيقة وضغط 1 جو ومضاف إليه المضاد الحيوي التراسايكلين 250 mg/Lتر. لقحت الأطباق بأقراص قطرها 0.5 mm من مستعمرات عزلات الفطر *R. solani* المنشأة على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 أيام كل على انفراد. ثم وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1°C وبعد يومين زرعت بذور اللهانة المحلية تم اختبار نسبة إنباتها مسبقاً المعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1% كلور حر لمدة 3 دقيقة ثم غسلت بماء مقطر معقم بعد ذلك جففت بوضعيتها على ورق الترشيح المعقم ثم وضعت بشكل دائري قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة/ طبق وباربع مكررات لكل عزلة مع ترك معاملة مقارنة بدون فطر. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 1°C وأخذت النتائج بعد سبعة أيام وذلك بحساب النسبة المئوية لإنبات البذور وكما يلي:

$$\% \text{ لإنبات} = (\text{عدد الإنبات النابتة} / \text{العدد الكلي للبذور}) \times 100\%$$

تأثير عزلات الفطر *R. solani* الممرضة في إنبات بذور الخيار:

أجريت هذه التجربة في أصص بلاستيكية قطر 12.5 cm وسعة 1Lkgm وقد تم ملء الأصص 1Kgm تربة معقمة بغاز بروميد المثيل ترتك التربة لفترة 15 يوم قبل الاستعمال ثم لوثت التربة بلقاح عزلات الفطر بنسبة 1% (وزن/ وزن) المحمل على بذور الدخن وكررت كل معامله ثلاث مرات مع ترك ثلاثة مكررات استخدمت كمقارنة ووضعت في الظلل الخشبية. رطبت جميع الأصص بالماء المقطر وبعد ثلاثة أيام من تلوث التربة باللقالح الفطري زرعت الأصص ببذور الخيار المحلي (وبعد تعقيمها سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم) بمعدل 10 بذور لكل أصيص سقيت الأصص بعد الزراعة وتم متابعتها. حسبت النسبة المئوية للإنبات عند اكتمال نسب الإنبات في معاملة المقارنة.

اختبار المقدرة التضاديه للفطر *Rhizoctonia solani* ضد الفطر *Trichoderma harzianum* على الوسط PSA

تم اختبار المقدرة التضاديه للفطر *T.harzianum* مع عزلة الفطر *R.solani* الممرضة بطريقة الزرع المزدوج إذ قسم طبق بتري بقطر 9 سم حاوي على الوسط الزرعي PSA بقطر وهي إلى قسمين متساوين ولقح مركز القسم الأول بقرص قطره 0.5 mm من الوسط الزرعي PSA النامية عليه مستعمرة الفطر الممرض Rh2 وبعمر 7 أيام أما مركز القسم الثاني فقد لقح بقرص مماثل من مستعمرة العامل الإحيائي. نفذت التجربة بواقع 3 مكررات مع تنفيذ معاملة مقارنة وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بالفطر الممرض *R. solani* فقط. ووضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1°C ولمدة 7 أيام وتم تقدير التضاد حسب المقياس الذي وضعه Bell وأخرون [23] والمكون من 5 درجات وكما يلي

- 1- نموات الفطر المقاوم تغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو
- 2- نموات الفطر المقاوم تغطي ثلثي مساحة الطبق وتغطي نموات الفطر الممرض الثلث الباقى
- 3- نموات الفطر المقاوم تغطي نصف مساحة الطبق ونمواات الفطر الممرض تغطي النصف الآخر
- 4- نمواات الفطر المقاوم تغطي ثلث مساحة الطبق بينما تغطي نمواات الفطر الممرض الثلثين الآخرين
- 5- الفطر المقاوم غير نامي وتغطي نمواات الفطر الممرض كامل مساحة الطبق

*ويعتبر العامل الإحيائي فعالاً من الناحية التضاديه عند إظهار درجة تضاد 2 أو أقل مع عزلات الفطر *R.solani* ، من جانب آخر استعمل المبيد الكيميائي Beltanol كمقارنة لقياس فاعلية العوامل المختبرة، حضر 100 مل من الوسط الزرعي PSA في دورةين سعة كل منها 250 مل وعقمت في جهاز المؤصددة بدرجة حرارة 121 °م وضغط 1 جو لمدة 20 دقيقة بعد التعقيم وانخفاض درجة الحرارة إلى ما قبل التصلب أضيف إلى الدورقين المضاد الحيوي التراسيلكين وبمعدل 250 ملغرام/لتر ثم أضيف لأحد الدورقين المبيد الكيميائي beltanol وبتركيز 1 مل/لتر أما الدورق الثاني فترك بدون إضافة مبيد كمعاملة مقارنة ثم رج الدورق الحاوي على الوسط الزرعي المضاف إليه مبيد beltanol وصب الوسط الزرعي لكل من الدورقين في 3 أطباق بلاستيكية معقمة قطر كل منها 9 سم وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق من الأطباق بقرص من الفطر الممرض *R. solani* قطر كل منها 5 ملم مأخوذة من حافة مستعمرة الفطر الممرض بعمر 4 أيام بواسطة الثاقب الفليني ثم حضنت جميع الأطباق [24، 25] وسجلت النتائج حين وصول الغزل الفطري في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق بعدها حسب مقدار التثبيط لنمو الفطر باخذ معدل قطرين متعددين يمران بمركز القرص وحددت النسبة المئوية للتثبيط النمو الفطري وفقاً للمعادلة التالية:

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

اختبار المقدرة التضاديه لبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* ضد الفطر المرض

تم تنفيذ هذا الاختبار وفق الخطوات التالية

1- تحضير لقاح البكتيريا *Bacillus subtilis*

تم الحصول على عزلة البكتيريا من مختبر أمراض النبات - كلية الزراعة / قسم وقاية النبات .جامعة بغداد من قبل دكتور كامل سلمان جبر ونشطت بتنميتها على الوسط الزرعي Nutrient Broth

2- تحضير لقاح البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تم الحصول على عزلة البكتيريا من مختبر الأحياء المجهرية كلية العلوم البناء - قسم علوم الحياة / جامعة بابل ونشطت بتنميتها على الوسط الزرعي N.B.

3- تحديد التركيز الفعال للبكتيريا *Bacillus subtilis* و البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تم استعمال تراكيز مختلفة من عالق البكتيريا P.S, B.S كل على انفراد (1، 10، 25 ، %50) وذلك بإضافة حجم معين من العالق البكتيري (Pseudomonas fluorescens) 7^{10×2} *Bacillus subtilis* 7^{10×4} مل (cfu) / مل) وبعمر 5 أيام إلى حجم معين من الوسط الزرعي PDA المعقم بجهاز المؤصددة لمدة 20 دقيقة والمبرد تم صب الوسط في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم وبعد إن تصلب الوسط لقحت الأطباق في مركزها بقرص من النمواات للفطر *R. solani* بعمر 7 أيام حضنت جميع الأطباق واستعملت ثلاثة أطباق لكل معاشرة كمكررات وترك 3 اطباق بدون إضافة كمقارنة أخذت النتائج بعد وصول قطر مستعمرة معاملة المقارنة إلى حافة الطبق بحساب معدل القطرين المتعددين سم وحساب نسبة التثبيط بحسب معادلة المذكورة في الفقرة السابقة.

تأثير المبيد الكيميائي Beltanol وبعض العوامل الاحيائية في نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظل الخشبية

عقمت تربة مزيجية بغاز بروميد المثيل، وترك لفترة 15 يوم قبل الاستعمال. بعدها وزعت في أصص بلاستيكية قطر 12.5 سم وبمعدل 1 كغم / أصيص وتم اجراء المعاملات التالية: 1- الفطر (Rh2) *R. solani* بمفرده . 2- الفطر + *R. solani* + المبيد الكيميائي Beltanol . 3- الفطر + *R. solani* + الفطر (TH) . 4- الفطر + *T. harziaunum* . 5- الفطر + *Pseudomonas fluorescens* . 6- المقارنة بدون البكتيريا *Bacillus subtilis* + *R. solani* (PS) . 7- الفطر الاحيائي TH بمفرده . 8- بكتيريا PS بمفردها . 9- بكتيريا BS بمفردها. 10- المبيد الكيميائي Beltanol بمفردة. أضيف لقاح الفطر *R. solani* محملاً على بذور الدخن المحلي إلى المعاملات التي تتطلب ذلك وبنسبة (1%) (وزن / وزن) . وأضيف المبيد الكيميائي Beltanol بمتركيز (1 مل / لتر) ، وذلك بعد يوم من إضافة لقاح الفطر الممرض [26]، تم إضافة لقاح الفطر *T. harzianum* محملاً على بذور الدخن المحلي (وزن/وزن)، وبعد أسبوع تم إضافة لقاح الفطر الممرض. أما بالنسبة لمعاملات البكتيريا فقد تم إضافتها بمعدل 25 مل / أصيص وذلك قبل ثلاثة أيام من إضافة الفطر الممرض. زرعت التربة بمعدل 5 بذور خيار محلي / الأصيص. ووضعت بالظل الخشبية التابعة للكلية التقنية المسيب. استعمل التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات لكل معاملة وتمت متابعة التجربة وسوقها كلما دعت الحاجة. وأخذت النتائج بعد 60 يوم من الزراعة بحساب النسبة المئوية للنباتات المصابة بمرض تعفن جذور الخيار في كل معاملة وتم حساب شدة الاصابة اعتماداً على الدليل المرضي التالي: 0 = النباتات سليمة. 1 = 1 – 25% من مساحة سطح الجذر متעفن. 2 =

أكثر من 25 - 50% من مساحة سطح الجذر متوفن = أكثر من 50 - 75% من مساحة سطح الجذر متوفن. 4 = أكثر من 100-75% من مساحة سطح الجذر متوفن دون موت النبات. 5 = موت النبات . وحسبت النسبة المئوية لشدة الأصابة وفق معادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{100 \times \frac{\text{عدد النباتات في} \quad (\text{عدد النباتات في} \quad \text{الدرجة} 0 \times 0 + \text{الدرجة} 1 \times 1 + \dots + \text{الدرجة} 5 \times 5)}{\text{مجموعة النباتات المفحوصة} \times 5}}{\text{لشدة الأصابة}} \quad \text{وتم قياس أطوال ووزن النباتات الطري والجاف .}$$

النتائج والمناقشة:

نسبة الأصابة بمرض تعفن جذور الخيار وعزل وتشخيص الفطر الممرض من جذور النبات المصابة

اظهرت نتائج المسح الحقلى لبعض حقول نباتات الخيار فى محافظة بايل انتشار مرض تعفن الجذور فى جميع الحقول التى شملها المسح وقد تراوحت النسبة المئوية للإصابة ما بين 77.7-100% (جدول 2) وسجلت أعلى إصابة فى حقول منطقة الظاهرية التي بلغت 100% واقل إصابة في منطقة السدة والتي بلغت 77.7% ويعزى سبب انتشار المرض بهذه النسبة إلى زراعة محصول الخيار بصورة متكررة في نفس الحقول وملائمة الظروف البيئية أدى ذلك إلى تراكم لفاح الفطريات الممرضة خاصة الأجسام الحجرية Sclerotia التي تبقى في التربة لمدة طويلة، وقد يكون السبب هو الاختلاف في العمليات الزراعية وفي نوع وطريقة إضافة الأسمدة هذه العوامل كلها قد أثرت في النباتات وجعلتها أكثر حساسية للاستجابة للممرضات النباتية. وتم عزل وتشخيص عده أجذانس من الفطريات من جذور نباتات الخيار المصابة بمرض تعفن الجذور بالاعتماد على الأعراض الظاهرة المتمثلة باصفرار الأوراق وضعف النبات وظهور تقرحات على قواعد السبقان. وكان أكثر أنواع الفطريات الممرضة تكراراً هو الفطر R. solani الذي تم عزله من جميع المناطق التي شملها العزل وهذه النتائج تتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي أجريت على نباتات عده والتي سجلت أن الفطر R.solani من المسببات الرئيسية لمرض تعفن الجذور في مناطق مختلفة من العراق [26، 27، 28].

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر R. solani باستعمال بذور الـلهانة

أظهرت النتائج (جدول 3) إن جميع عزلات الفطر R. solani سبب انخفاض معنوي في النسبة المئوية للإنبات بصورة متفاوتة إذ تتراوح ما بين 0-8% قياساً بمعاملة المقارنة بدون فطر التي بلغت النسبة المئوية للإنبات فيها 100% وهذه النتائج تتفق مع ما وجدته الجبوري [26] من إن معظم عزلات الفطر R. solani المختبرة أحدثت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات بذور اللهانة إذ حققت بعض العزلات خفضاً في النسبة المئوية إلى الصفر مقارنة بمعاملة المقارنة التي كانت فيها نسبة الإنبات (95%). و ما توصلت إليه كريم [24] من اختلاف عزلات الفطر في مقدرتها الامرراضية وخفضها للنسبة المئوية للإنبات بذور اللهانة.

الجدول 2: النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور نباتات الخيار

النسبة المئوية للأصابة	الموقع	ت
77.7	السدة	1
80.0	قضاء المحاويل/ البدعة	2
100.0	طريق أبو الجاسم	3
100.0	الطاهرية	4

الجدول 3: الكشف عن العزلات الممرضة للفطر R.solani باستعمال بذور اللهانة

%للإنبات	العزلات
0.00	Rh2
1.33	Rh1
5.33	Rh3
8.00	Rh4
100.00	المقارنة
4.201	عند مستوى 5% L.S.D

R.solani عزلة منطقة السدة، Rh2=عزلة منطقة البدعة Rh3=عزلة منطقة أبو الجاسم Rh4=عزلة منطقة الطاهرية

تأثير عزلات الفطر الممرض *R.solani* في نباتات الخيار

بينت نتائج الجدول 4 ، إلى إن عزلة الفطر الممرض Rh2 قد أحدثت خفضاً معنوياً في معدل النسبة المئوية لانبات بذور الخيار إذ منعت انبات البذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة بدون فطر والتي كانت نسبة إنباتها 100% وجاءت النتيجة مطابقة لنتائج التجربة السابقة حيث منعت العزلة انبات بذور اللهانة التي تعد من العوائل النباتية الحساسة لفعل الانزيمي للفطر الممرض. كما سببت العزلة Rh1 خفضاً معنوياً بنسبة الانبات بلغت 16.7%. ويعزى سبب مقدرة هذا الفطر على إحداث هذه النسبة إلى آلياته المختلفة المعروفة كإفراز الإنزيمات المحللة لخلايا العائل وإفراز المادة الایضية ذات التأثير السام الذي يؤدي إلى قتل الجنين وفشل الإنبات [29].

الجدول 4 : تأثير عزلات الفطر الممرض *R. solani* في النسبة المئوية لنباتات الخيار

العزلة	%للانبات
المقارنة	100.0
Rh1	16.7
Rh2	0.0
L.S.D عند مستوى 5%	6.66

اختبار المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي بتناول والفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *R. solani* على الوسط الزرعي PSA

أوضحت النتائج في الجدول 5 ، التضاد بين الفطر الإحيائي *T. harzianum* وعزلة الفطر الممرض *R. solani* أو قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض إذ حقق قدرة تضادية بلغت 2 حسب السلم الذي وضعه Bell وأخرون [23] وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما توصل إليه نتائج العديد من الباحثين [24، 25، 28] والتي أشارت إلى قدرة الفطر الممرض *T. harzianum* في تثبيط النمو الفطري للفطريات الممرضة في الوسط الزرعي PDA ومنها الفطر الممرض *R. solani* ويرجع ذلك إلى امتلاك الفطر الإحيائي العديد من الإنزيمات المحيطة لجراثيم الخلايا الفطرية مثل إنزيمات B-1,3 glucanases أو قد يرجع إلى التطفل المباشر وذلك بالتقاف الغزل الفطري للمقاوم الإحيائي *T.harzianum* حول الفطر الممرض أو من خلال اجتماع هذه الآليات للتطفل على الغزل الفطري وإفراز المضادات الحياتية مثل Trichodermine و Demadine و Viridene و Acetaldehyde و Gliotoxine و Chitinase و Demadine أو قد يرجع إلى التطفل المباشر وذلك بالتقاف الغزل الفطري للمقاوم الإحيائي *T.harzianum* حول الفطر الممرض أو من خلال اجتماع هذه الآليات للتطفل على الغزل الفطري وإفراز المضادات الحياتية مثل Trichodermine و Demadine و Viridene و Acetaldehyde و Gliotoxine و Chitinase و Demadine [12، 13]. وبينت نتائج الجدول 5، إن المبيد الكيميائي بتناول ذو كفاءة وفعالية تثبيطية عالية ضد الفطر الممرض *R. solani* إذ كان معدل نمو الفطر 0 سم والنسبة المئوية للثبيط 100% والتي اختفت معنويًا عن معاملة المقارنة بدون مبيد والتي كان معدل نمو الفطر فيها 9 سم والنسبة المئوية للثبيط 0% وهذه النتيجة تتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي ثبتت إن المبيد الكيميائي بتناول له نسبة مئوية تثبيطية مقدارها 100% ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي PSA [24، 25].

الجدول 5 : المقدرة التضادية للفطر *T.harzianum* والمبيد الكيميائي بتناول في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الوسط الزرعي

المعاملة	قطر المستعمرة/ سم	%للثبيط الفطر
Rh2+Blтанол	0.00	100.0
Rh2+T.h	2.27	74.8
Rh2 بمفردة	9.00	0.0
(%)LSD	0.30	3.25

اختبار المقدرة التضادية لبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي PSA

أظهرت نتائج الجدول 6 ، قدرة البكتيريا *B. subtilis* على تثبيط عزلة الفطر الممرض *R.solani* بتركيز 10% على الوسط الزرعي PSA وقد بلغ معدل النمو القطري لعزلة الفطر الممرض صفرًا قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9 سم وبلغ معدل النسبة المئوية للثبيط الفطر الممرض 100% ويعزى سبب ذلك إلى قدرة البكتيريا على النمو بصورة سريعة ومن ثم انتشارها على الوسط الزرعي PSA ثم تثبيط الفطر الممرض وكذلك يعود السبب إلى قدرة البكتيريا على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل subtiline, bacitracin, bacillomycin على تثبيط نمو الفطر الممرض [30] وجاءت هذه النتيجة مطابقة للعديد من الدراسات التي ثبتت قدرة بكتيريا *Bacillus subtilis* على تثبيط نمو الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي [31، 32]. كذلك أظهرت نتائج الجدول 6 قدرة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* على تثبيط عزلة الفطر الممرض *R.solani* بتركيز 10% على الوسط الزرعي PSA وقد بلغ معدل النمو القطري لعزلة الفطر الممرض 0 سم قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9% وبلغ معدل النسبة المئوية للثبيط الفطر الممرض 100% ويعزى سبب قدرة بكتيريا

ampelomin على تثبيط نمو الفطر الممرض إلى إنتاجها بعض المضادات الحيوية ومركب *Pseudomonas fluorescens* وإنجها بعض الإنزيمات الممحطة لجدار الخلايا الفطرية مثل إنزيم Endochitinase كذلك من أسباب قدرة البكتيريا على تثبيط نمو الفطر الممرض *R.solani* هو إنتاجها لمركبات الـ Siderophore التي لا ترتبط نمو الغزل الفطري للفطر الممرض وإنما هي مواد تقوم بجعل الحديد غير جاهز للفطر وبالتالي يؤدي إلى موته وتحله. وهذه النتيجة جاءت مطابقة لنتائج العديد من الدراسات التي أثبتت كفاءة استخدام عزلات من بكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في تثبيط الفطر الممرض على الوسط الزراعي [34].

جدول 6: تأثير تركيز من البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* في نمو الفطر الممرض.

على الوسط الزراعي *solani*

المعاملة	تركيز %	قطر المستمرة سم	لتثبيط الفطر %
Rh2 + BS	1	0.67	92.5
	10	0	100
	25	0	100
	50	0	100
Rh2+PS	1	1	88.8
	10	0	100
	25	0	100
	50	0	100
Rh2 بمفرده	-	9	0
L.S.D عند مستوى 5%	-	0.33	3.70

تأثير المبيد الكيميائي Beltanol وبعض العوامل الاحيائية في نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية

أوضحت نتائج هذه التجربة في الجدول 7، فاعالية العوامل الاحيائية المستعملة في المكافحة في خفض نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار للنباتات المعاملة بها نتيجة تضادها مع العامل المسبب لحالة المرضية وهو الفطر الممرض *R.solani*. تحت ظروف الظلة الخشبية. اذ ساهم العامل الاحيائي *T. harzianum* بتوفير حماية جيدة للنباتات من الإصابة بالفطر الممرض مما ساعد وبشكل ملحوظ بخفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض الى 46.7% على نقيو لنسبة وشدة الاصابة بالمرض الى 28.0% على التوالي. كما بينت النتائج كفاءة البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* في خفض الإصابة بتعفن الجذور إلى 53.3% على التوالي وخفض شدة الإصابة الى 32% على التوالي مما أدى الى زيادة معنوية في معايير نمو النبات المدروسة التي شملت طول النبات والوزن الطري والجاف قياساً بمعاملة الفطر الممرض *R. solani* بمفرده الذي كانت نسبة وشدة الاصابة عالية بلغت 100% مانعاً بذلك إنبات البذور ومبيناً تعفنها، وهذه من الخصائص المميزة للفطريات المحمولة بالتربة soil born fungi *R. solani* ومنها الفطر Beltanol حيث يهاجم البذور والبادرات قبل بروغها ومحدثاً تعفنها وموتها [4]. وتفوق المبيد الكيميائي Beltanol على بقية المعاملات بخفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض مما انعكس وبشكل ايجابي في زيادة طول النبات والوزن الطري والجاف لتبلغ في معاملته 90.67 سم و37.53 غم على التوالي. وهذا يعود كون المبيد Beltanol هو من المبيدات الفعالة في السيطرة على الفطريات الموجودة بالتربة لاسيما الفطر الممرض *R. solani* ومادته الفعالة الكينوسول فإنه يكون مركب مخلبي مع النحاس مما يسهل مروره داخل الفطر و يؤدي إلى قتلها وحماية البذور والنباتات [35]. ومن جهة اخرى فإن إضافة العوامل الاحيائية للنبات وبدون اضافة الفطر الممرض ساهم في زيادة ملحوظة بنمو النبات اذ ان الفطر *T. harzianum* حق زيادة معنوية في طول النبات والوزن الطري والجاف التي كانت 116.67 سم و42.67 غم و 9.3 غم على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة بدون أي إضافة التي كانت معايير النمو فيها 109.33 سم و 41.3 غم و 9.0 غم على التوالي، كذلك ساهمت البكتيريا PS و BS على زيادة ظاهرية و معنوية لنمو النبات وبنقوق معنوي لمعاملة البكتيريا BS على بقية المعاملات بزيادة معدلات النمو الى 122.33 سم و 43.33 غم و 9.4 غم على التوالي. وتتفق النتائج مع ما توصل اليه Howell [36] من أن أنواع الفطر *Trichoderma spp* تحفز الاستجابة الدفاعية لبادرات الطماطة ضد الفطر *R. solani* عند تغليف بذورها بأبوااغ الفطر الإحيائي وعزى ذلك إلى زيادة إنتاج التربيبات Peroxidase و Terpeniodes و مع ما وجده Geffre [28] من كفاءة العامل الاحيائي *T. harzianum* في حماية نباتات اللوباء من الإصابة بالفطر *R. solani* وزيادة معايير نموها تحت ظروف الظلة الخشبية. ان كفاءة البكتيريا *P.s fluorescens* و *B. subtilis* في خفض الإصابة بتعفن وزيادة نمو النبات قد يعزى السبب إلى أن هذه البكتيريا تعمل كمحفز للنمو IAA و bacterial growth promoting Rhizobacteria (PGPR) و تعمل بآلية عدمة إنتاج مواد أسيوية ومركبات عضوية وكذلك إنتاج IAA والإنزيمات المحللة لجدار خلايا الممرض والمضادات الحيوية والهرمونات التي يعتقد أنها تعمل على كبح الممرض [14 ، 15].

نستنتج من الدراسة الحالية من ان الفطر *R. solani* هو من المسببات الرئيسية لمرض تعفن جذور الخيار في محافظة بابل ومتلاjk العامل الاحيائي الفطر *Trichoderma harzianum* و البكتيريا *Bacillus* و *Pseudomonas fluorescens* و *subtilis* فاعلية تثبيطية عالية ضد الفطر *R. solani* مختبرياً وتحت ظروف الظلة الخشبية.

الجدول 7: تأثير بعض العوامل الاحيائية والمبيد الكيميائي Beltanol في نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار وبعض معايير نمو النبات

الوزن الجاف/ غ	الوزن الطري/ غ	طول النبات / سم	% شدة الاصابة	% للاصابة	المعاملات
0.0	0.00	0.00	100.0	100.0	الفطر (R. solani (Rh2) بمفرده
7.3	33.67	71.61	28.0	46.7	الفطر + Rh2 (T. harziaunim)
7.0	31.67	68.33	32.0	53.3	الفطر + Rh2 + البكتيريا (Pseudomonas fluorescens).
7.4	34.00	75.33	24.0	33.3	الفطر (BS)Bacillus subtilis + Rh2
8.0	37.53	90.67	5.3	13.3	الفطر Rh2 + المبيد الكيميائي Beltanol
9.0	41.3	109.33	0.0	0.0	المقارنة بدون أضافة الفطر الممرض
9.3	42.67	116.67	0.0	0.0	الفطر الاحيائي TH بمفرده
9.2	41.67	114.67	0.0	0.0	بكتيريا PS بمفردها
9.4	43.33	122.33	0.0	0.0	بكتيريا BS بمفردها
9.1	41.33	113.33	0.0	0.0	المبيد الكيميائي Beltanol
0.54	1.23	4.24	12.4	12.44	(عند مستوى الاحتمالية 0.05) L.S.D.

المصادر:

- حسن، احمد عبد المنعم . 1991 . انتاج المحاصيل . الدار العربية للنشر والتوزيع جمهورية مصر العربية . 711 ص.
- المجموعة الاحصائية السنوية.2010.الجهاز المركزي للاحصاء.وزارة التخطيط.العراق.
- طه، خالد حسن.1990. المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضروات الوعائي المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Ed. Elsevier Inc. USA.998 pp.
- Marshal, D.S. 1982. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum cocentratum on damping off of snap bean in acidic soil. Plant Dis. 66: 788 – 789 .
- Cartwright, D. K.; and D. M. Benson. 1994. Effect of population dynamics of *Pseudomonas Cepacia* and *Paecilomyces lilacinus* on colonization of polyfoam rooting cubes by *Rhizoctonia solani* Compant, S.; B. Duffy; J. Nowak; C. Clement; and E. Actbarka . 2005. Use of plant growth promoting bacteria for bio control of plant diseases: principles, mechanism of action and future prospects. Applied and Environmental Microbiol. 71(9): 4951 – 4959.
- Benson, D.M.; and J.R. Burns. 2000. Biocontrol of damping off *Catharanthus roseus* caused by *Pythium ultimum* with *Tricoderma virens* and binuclate *Rhizoctonia solani* .Plant Dis. 84: 644 – 648.
- Johansson, P. M.; L. Johansson; and B. Gerhardson. 2003. Suppression of wheat – seedling disease caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. Plant Pathology, 52: 2, 219-227.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. M. Elad , E. Fisher and A. Dinoor . 2002 . Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanism of disease suppression. Phytopathology 92 : 976 – 985 .
- ابو عرفوب، محمود موسى.2000.المقاومة الحيوية لامراض النبات.المكتبة الاكاديمية، القاهرة.684 ص.
- Morsy, E.M. 2005. Role of growth promoting substance producing microorganism on tomato plant and control of some root rot fungi. Ph.D. Thesis, Fac. Of Agric. Ain shams Univ., Cairo.
- Harman, G. E. 2006. Overview of Mechanisms and uses of *Trichoderma* spp Phytopathology 96:190-194.
- Howell, C. R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology 96: 178-180.
- Haas, D.; C. Keel; and C. Reimann. 2002. Signal transduction in plant-beneficial rhizobacteria with biocontrol properties. Antonie Leeuwenhoek, 81 : 385-395 .
- Ryu, C. M.; M.A. Farag; C.H. Hu; M.S. Reddy; J.W. Kloepfer; and P.W. Pareg, . 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis* Plant Physiol., 134: 1017-1026

- 16- Ramos, A. d. S., S. B. Fiaux and S. G. F. leite. 2008. Production of 6-Pentyl-x-Pyrone by *Trichoderma harzianum* in solid-State fermintation. Brazilian J. of Microbiol. 39:712-717.
- 17- Ulker, S., A. Ozel, A. Colak and S. AlPay Karaoglu. 2011. Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* isolated from soil. Turk. J. Biol. 35:1-8.
- 18- Parmeter , J. R. 1970 . *Rhizoctonia solani* : Biology and pathology . Berkeley , Univ. of California Prees . 255 pp .
19. Sneh,B.,S.J.Hare,S.Neate, and G.Dijst.1996. *Rhizoctonia* species Taxonomy ,Molecular, Ecology, Pathology and Disease Control ,Kluer academic publisher ,Dordrecht the nether land.580 pp.
- 20 - Blazier , S. R. and K. E. Conway . 2004 . Characterization of *Rhizoctonia solani* Insolates Associated with Patch Diseases on Turfgrass . Proc. Okla. Acad. Sci. 84 : 41 – 51 .
- 21- Dewan, M.M. 1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in root of Wheat and ryegrass and their effect on take – all and hostgrowth. Ph.D. thesis. Univ. west australia.210 pp.
- 22- Bolkan, H.H.; and E.E. Butler. 1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 64: 513 – 522.
- 23- Bell , D. K. , H. D. Well , and G. R. Markham . 1982 . In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant Pathogens. Phytopathology . 72 : 379 – 382.
- 24- كريم ، فاطمة هادي. 2012. عزل وتشخيص المسببات الفطرية لتعفن جذور البا米ا والتكمال في مقاومتها بمحافظة بابل . رسالة ماجستير . كلية التقنية – المسبب.
- 25- الموسوي، محسن عبد علي محسن.2012. تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء ومقاومة بأشعمال بعض عوامل الاستثناث الكيميائية والاحيائية. رسالة ماجستير . كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 26- الجبوري ، حرية حسين شهاب . 2002. تأثير استخدام معيق النمو كلنار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على إصابة نباتات الباقلاء بمبسبات تعفن الجذور. رسالة ماجستير . كلية الزراعة - جامعة بغداد .
- 27- العيساوي ، ذياب عبد الواحد فرحان . 2006 . عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقى ومقاومتها بالطرق الإحيائية والكيمياوية. رسالة ماجستير . الكلية التقنية- المسبب .
- 28- جعفر، علا هادي . 2011 . المقاومة الإحيائية والكيميائية لمرض ذبول اللوبياء المتسبب عن الفطريين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* (Mart) Sacc و Kuhn . رسالة ماجستير . الكلية التقنية- المسبب .
- 29- Weinhold , R. W. and B. S. Sinclair . 1996 . *Rhizoctonia solani* : Penetration, colonization , and host response . In Rhizoctonia species taxonomy, molecular , biology , ecology , pathology , and disease control . (eds) Sneh , B. , S. J. Hare , S. Neate , and J. Dijist . Kluwer acad. Publishers , Dordrecht the Nether Land . 163 – 174 .
- 30- Montealegre, J. R.,R . Rodrigo , P . M . Luz , H . Rodrigo , S.Polyana , and B . Ximena . 2003 . Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. J. Biotec. 6 : 115-127.
- 31- Muhammad, S. and A. Amusa . 2003 . In-vitro inhibition of growth of some seedling blight inducing Pathogens by compost-inhabiting microbs. Journal of Biotechnology. 2 : 161 –164.
- 32- Larkin, R. P . 2004 . Development of integrated biological and cultural approaches for control of Powdery Scab and other soil borne disease. USDA, ARS, New England Plant, soil, and water lab Univer. of Maine, Orone, ME O 44469 WWW-Maine Potatos. com / Pdf / Potresgrant – 04.
- 33- الجبوري ، صبا باقر خلف. 1998. اللاقح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على محصول القطن، الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض الخناق *Rhizoctonia solani* . رسالة ماجستير . كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 34- الجميلي ، سامي عبد الرضا وضياء سالم على الوائلي . 2000 . تقييم كفاءة سلالة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* (pf.5) في مقاومة الفطريين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium graminearum* على الحنطة . مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 13 : 137 – 146 .
- 35- Meister, R. T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for " Beltanol ". Willoughby OH. 86 : 45p.
- 36- Howell, C. R. .2003. Mechanism employed by *Trichoderma* species in the Biological control of plant disease: the history and evolution of current concepts . Plant Dis. 87: 1 -9.