مجلة المثنى للعلوم الزراعية المجلد (8) العدد(1) لسنة 2020
Al-Muthanna J. For Agric Sci. Print ISSN: 2226-4086 Online ISSN:2572-5149
DOI 10.52113/mjas04/8.1/5

مجلة المثنى للعلوم الزراعية
muthjas.mu.edu.iq

Evaluation of the efficiency of bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azotobacter chroococcum* in the control of bacterial soft rot disease caused by bacteria *Pectobacterium carotovorum*

Nazar Rashid Merzah, Department of plant protection, Ministry of Agricultuer*
Jamal Hussien Kadhim, plant protection, College of Agriculture, University of Kufa
Firas Tariq Rasheed, plant protection, Department of plant protection, Ministry of Agricultuer
Abdul naby Abdul ameer Matrod, College of Agriculture, University of Basrah

Article Info.
Received Date 18/08/2019
Accepted Date 01/10/2019
Keywords
Biological control, Biotic bacteria *P. fluorescens* and *A. chroococcum*, Plant disease

Abstract

The results showed the efficacy of bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azotobacter chroococcum* and their mixture in inhibiting the soft rot disease caused by the bacteria *Pectobacterium carotovorum* and reducing the percentage of the disease, as the treatment of using pathogen and the mixture of the two types of bacteria *A. chroococcum* and *P. fluorescens* and significantly different from the other treatments as the injury rate reached 26.6%, and the results showed that the use of *A.chroococcum* treatment was superior to the other treatments in increasing the chlorophyll content, reaching 46.59 mg. L-1, The treatment of using bacteria *A. chroococcum* showed a superiority in the number of marketable tubers, reaching 4.5 tuber / plant, and the lowest number of non-marketable tubers, reaching 1.09 tuber / plant, and the highest average weight of the marketable tubers was 947.05 g / plant. in the treatment of using a mixture of *A. chroococcum* and *P. fluorescens* and the treatment of using *A. chroococcum*, which amounted to 928.51 g / plant, with a significant difference from all other treatments, while the treatment of using bacteria *A. chroococcum* gave the lowest weight in the yield of a single unmarketable plant reached 41.95 g / plant.

Corresponding author: E-mail(nazar.rashid@yahoo.com) Al- Muthanna University All rights reserved

تقييم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في مكافحة مرض التعفن الطري البكتيري المتسبب عن البكتريا *Pectobacterium carotovorum*

*نزار راشد مرزه، دائـرة وقايـة المـزروعات - وزارة الزراعـــة
جمال حسين كاظم، قسم وقاية النبات / كلية الزراعة - جامعة الكوفة
فراس طارق رشيد، دائـرة وقايـة المـزروعات - وزارة الزراعـــة
عبدالنبي عبدالامير مطرود، قسم وقاية النبات - كلية الزرعة - جامعة البصرة

الخلاصة:

اظهرت النتائج كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* وخليطهما في تثبيط مرض التعفن الطري المتسبب عن البكتريا *Pectobacterium carotovorum* وخفض نسبة الاصابة المئوية بالمرض إذ تفوقت معاملة استخدام العامل الممرض و خليط نوعي البكتريا *A. chroococcum* و*P.fluorescens* وبفارق معنوي عن باقي المعاملات حيث بلغت نسبة الاصابة 26.6%، وبينت النتائج ان استخدام معاملة البكتريا *A.chroococcum* قد تفوقت على المعاملات الاخرى في زيادة محتوى الكلوروفيل اذ بلغت 46.59 ملغم. لتر$^{-1}$، وقد اظهرت معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* تفوقاً في عدد الدرنات القابلة للتسويق إذ بلغت 4.5 درنة/ نبات، و اقل عدد من الدرنات غير القابلة للتسويق اذ بلغت 1.09 درنة/ نبات، اما اعلى معدل لوزن الدرنات القابلة للتسويق 947.05 غم/ نبات كان في معاملة استخدام خليط نوعي البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* و معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* التي بلغت 928.51 غم/ نبات وبفارق معنوي عن جميع المعاملات الاخرى فيما اعطت معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* اقل وزن في حاصل النبات الواحد غير القابل للتسويق بلغ 41.95 غم/ نبات.

*البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

المقدمة:

تعد البطاطا *Solanum tuberosum*, L. من محاصيل الخضر المهمة عربياً وعالمياً لكونها مصدراً غذائياً جيداً غنياً بالطاقة مقارنة مع محاصيل نشوية اخرى، اذ يحتوي كل 100 غرام من درنات االبطاطا على 22 غرام مادة جافة تعطي نحو 76 وحدة حرارية، تستخدم درنات البطاطا استخداماً مباشراً في تغذية الانسان و استخداماً غير مباشر في الصناعات التحويلية بعد تجميدها اوتجفيفها (بوراس وآخرون، 2006). يصاب محصول البطاطا بالعديد من الامراض، ويعد مرض التعفن الطري البكتيري bacterial soft rot والساق الاسود Blackleg التي تتسبب عن البكتريا الممرضة *P. carotovorum* اكثرها شيوعاً، و أحد العوامل المحددة لانتاج محصول البطاطا في العالم (des Essarts و آخرون، 2016). وتعد المكافحة الكيميائية بإستخدام المبيدات اهم الطرق في السيطرة على هذا المرض، الا ان التلوث البيئي الناجم عن الاستخدام المفرط لهذه المبيدات الكيمياوية ادى الى تركيز الباحثين على تطوير مدخلات بديلة لمكافحة الامراض ومنها استخدام المكافحة الاحيائية Biological Control بإستخدام كائنات حية دقيقة (Etminani و Harighi، 2018). وعادة ما تكون عوامل المكافحة الاحيائية سلالات بكتيرية او فطرية (O'Brien، 2017)، او منتجات حيوية (Sigee، 1993).

لذا هدفت هذه الدراسة الى تقييم كفاءة بعض انواع البكتريا المستخدمة كعوامل مقاومة حيوية في تثبيط مرض التعفن الطري البكتيري المتسبب عن البكتريا *P. carotovorum* مختبرياً واختيار الاكثر كفاءة منها وتطبيقها حقلياً في مكافحة المرض.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات:

جمعت عينات من درنات البطاطا التي تظهر عليها اعراض اصابة بالتعفن الطري من مخازن (الرضوانية، ابي غريب، اليوسفية) وعلوة جميلة الموجودة في محافظة بغداد ومن الاسواق المحلية في محافظة كركوك، و جمعت عينات اخرى (درنات مصابة ، سيقان مصابة) من حقول (ابي غريب، السلاميات، اليوسفية) في محافظة بغداد وحقول الصويرة في محافظة واسط وحقول مويلحة في محافظة بابل وحقول عامرية الفلوجة في محافظة الانبار وحقول بيما ربر في محافظة اربيل خلال الموسم الخريفي 2018. وضعت العينات في اكياس بولي اثلين وجلبت الى مختبر التقنيات الاحيائية في دائرة وقاية المزروعات/ وزارة الزراعة/ بغداد، واجريت عليها عمليات عزل وتنقية المسبب المرضي.

عزل وتشخيص المسبب المرضي

اتبعت طريقة Doolotkeldieva وآخرون (2016) مع اجراء بعض التعديلات الطفيفة، اذ اخذت العينات المصابة وغسلت بماء جاري للتخلص من الاتربة العالقة فيها ثم عقمت سطحياً بهايبوكلورات الصوديوم 1% لمدة 3 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات للتخلص من آثار التعقيم، ازيلت القشرة الخارجية للبطاطا واخذت قطع صغيرة بحجم 0.5 – 1 سم بواسطة مشرط معقم وزرعت على وسط Nutrient Agar (28 غم / لتر ماء) وحضنت على درجة حرارة 28 °م لمدة 24 - 48 ساعة، اخذ جزء من المزروع البكتيري النامي بواسطة حلقة الناقل Loop وخططت على وسط Nutrient Agar للحصول على مستعمرات منفردة Single Colony.

شخصت البكتريا اعتماداً على الصفات المظهرية (شكل ولون وحواف المستعمرات البكتيرية) والمجهرية (تكوين الابواغ و استجابة الخلايا لصبغة غرام) والكيموحيوية (اختبار الاندول ، اختبار احمر المثيل ، اختبار فوكس ـ بروسكاور ، اختبار الكاتليز ، اختبار الاوكسديز ، اختبار استهلاك السترات).

اختبار القدرة الامراضية لعزلات البكتريا :

اجري اختبار الامراضية لجميع عزلات البكتريا التي تم الحصول عليها من الدرنات المصابة بالتعفن الطري والسيقان التي تظهر عليها اعراض الاسوداد، واستخدمت طريقة Kamysz وآخرون (2005) على شرائح درنات البطاطا، اذ اختيرت درنات بطاطا سلسمة و ليس عليها ضرر ميكانيكي مرئي وعقمت سطحياً بإستخدام هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1 % لمدة 5 دقائق ثم غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم مرتين، قطعت الدرنات الى شرائح متجانسة سمكها 10 ملم تقريباً ووضعت الشرائح في اوعية بلاستيكية 12×18 سم معقمة حاوية على ورق ترشيح مبلل لضمان توفر الرطوبة، تم عمل

حفرة في وسط كل شريحة بواسطة ثاقب فليني معقم قطر 5 ملم، لقحت الحفر بـ 100 مايكروليتر من عالق البكتريا تركيز 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل، حضنت الشرائح على درجة حرارة 28°م، وتم متابعة تطور الاصابة يومياً لمدة 6 ايام وسجلت النتائج.

أختبار قدرة التضاد بين عدة انواع من البكتريا والبكتريا الممرضة

اختيرت عدة انواع من البكتريا التي تستخدم كعوامل مقاومة حيوية ضد المسببات المرضية، التي تم الحصول عليها من مختبرات دائرة وقاية المزروعات التابعة الى وزارة الزراعة، ومختبرات البحوث الزراعية العائدة الى وزارة العلوم والتكنولوجيا في العراق، اختبرت قدرتها التضادية مختبرياً ضد البكتريا *P. carotovorum* لاختيار الانواع الاكثر كفاءة في تثبيطها ثم استخدامها حقلياً في مكافحة مرض التعفن الطري البكتيري. عقمت درنات البطاطا سطحياً بهايبوكلورات الصوديوم تركيز 1 % لمدة 5 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرتين، قطعت الدرنات بشكل شرائح بسمك 1 سم و تم عمل حفرة في وسط كل شريحة بواسطة ثاقب فليني قطره 5 ملم واضيف لكل حفرة 100 مايكروليتر من البكتريا المضادة بتركيز 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل، و100 مايكروليتر من البكتريا *P. carotovorum* بتركيز 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل، وضعت الشرائح في حاويات بلاستيكية معقمة وضع بداخلها ورق ترشيح معقم تم ترطيبه بماء مقطر معقم لضمان توفير الرطوبة اللازمة ثم وضعت في الحاضنة على درجة حرارة 28 درجة مئوية وبعد 48 ساعة تم قياس قطر النسيج المتعفن بواسطة المسطرة (Abdel-Alim وآخرون، 2002).

التجربة الحقلية لمكافحة مرض التعفن الطري

جهزت قطعة من الارض واجريت عليها عمليات الحراثة والتسوية والتنعيم، قسمت الارض الى مساطب طول 2.5 م وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة وكل مسطبة تمثل وحدة تجريبية، زرعت درنات البطاطا على مسافة 25 سم بين درنة واخرى وبواقع 10 درنات لكل وحدة تجريبية إذ تضمنت كل معاملة 30 نبات، استخدم نظام الري بالتنقيط للسقي، اجريت هذه التجربة لمكافحة مرض التعفن الطري المتسبب عن البكتريا *P. carotovorum* تضمنت استخدام نوعي البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* وخليطهما تركيز 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل. تم اختيار صنف البطاطا Elmundo لتنفيذ التجربة، إذ اخذت درنات بطاطا خالية من الاصابة الظاهرية وبأحجام متجانسة، ثم عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 10 % لمدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وتركت لحين جفافها، تم عمل ثلاث جروح متباعدة عن بعضها في كل درنة، اجريت طريقة العمل حسب القرغولي (1999) مع اجراء تغييرات طفيفة، واجريت المعاملات كلآتي:

غمر درنات البطاطا بالماء المقطر فقط

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا الممرضة *P. carotovorum* فقط .

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا *A. chroccocoom* لمدة 30 دقيقة فقط.

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا الممرضة *P. carotovorum* لمدة 30 دقيقة ثم غمرها بعالق البكتريا *A. chroccocoom* لمدة 30 دقيقة.

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا *P. fluorescens* لمدة 30 دقيقة.

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا الممرضة *P. carotovorum* لمدة 30 دقيقة ثم غمرها بعالق البكتريا *P. fluorescens* لمدة 30 دقيقة.

غمر درنات البطاطا بخليط من عالق البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* لمدة 30 دقيقة.

غمر درنات البطاطا بعالق البكتريا الممرضة *P. carotovorum* لمدة 30 دقيقة ثم غمرها بعالق البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* لمدة 30 دقيقة.

النسبة المئوية للإصابة

حسبت النسبة المئوية للإصابة حسب المعادلة التالية:

نسبة الاصابة = عدد النباتات المصابة/ عدد النباتات الكلي × 100

تقدير الكلوروفيل الكلي:

قدر الكلوروفيل الكلي في الاوراق الخضراء بأخذ عينات من الزوج الثالث للاوراق من ستة نباتات لكل معاملة وغسلت بالماء

جيداً وتركت لتجف بالهواء للتخلص من قطرات الماء، اخذ منها 1 غم واضيف اليه 10 مل من الاسيتون بتركيز 85 % وسحقت جيداً في هاون خزفي، رشحت العينة بورق الترشيح واخذ الراشح واكمل حجمه الى 100 مل بالاسيتون (Goodwin, 1976)، اخذت قراءات كل عينة بطولين موجيين هما 645 و663 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer في مختبرات دائرة وقاية المزروعات التابعة لوزارة الزراعة في بغداد، حسبت كمية الصبغة (ملغم. 100 $^{-1}$ نسيج طري) حسب المعادلة التالية :

$$\text{Total chlorophyll} = 20.0 \times D_{(645)} + 8.02 \times D_{(663)} \quad (v/w \times 1000)$$

D = الامتصاص الضوئي

$D_{(663)}$ = قراءة الامتصاص بطول موجي 663 نانوميتر

$D_{(645)}$ = قراءة الامتصاص الضوئي بطول موجي 645 نانوميتر

W = وزن النسيج الطري (1 غم)

V = الحجم النهائي للمستخلص (100 مل)

عدد درنات النبات القابلة للتسويق (درنة. نبات$^{-1}$)

تم حساب عدد الدرنات لنباتات الوحدة التجريبية ثم استخرج المعدل.

عدد درنات النبات غير القابلة للتسويق (درنة. نبات$^{-1}$)

تم حساب عدد الدرنات المتبقية من عدد درنات النبات الكلية بعد فصل الدرنات القابلة للتسويق لحاصل نباتات الوحدة التجريبية ثم استخرج المعدل.

وزن درنات النبات القابلة للتسويق (غم. نبات$^{-1}$)

تم وزن الحاصل لنباتات الوحدة التجريبية ثم استخرج الحاصل.

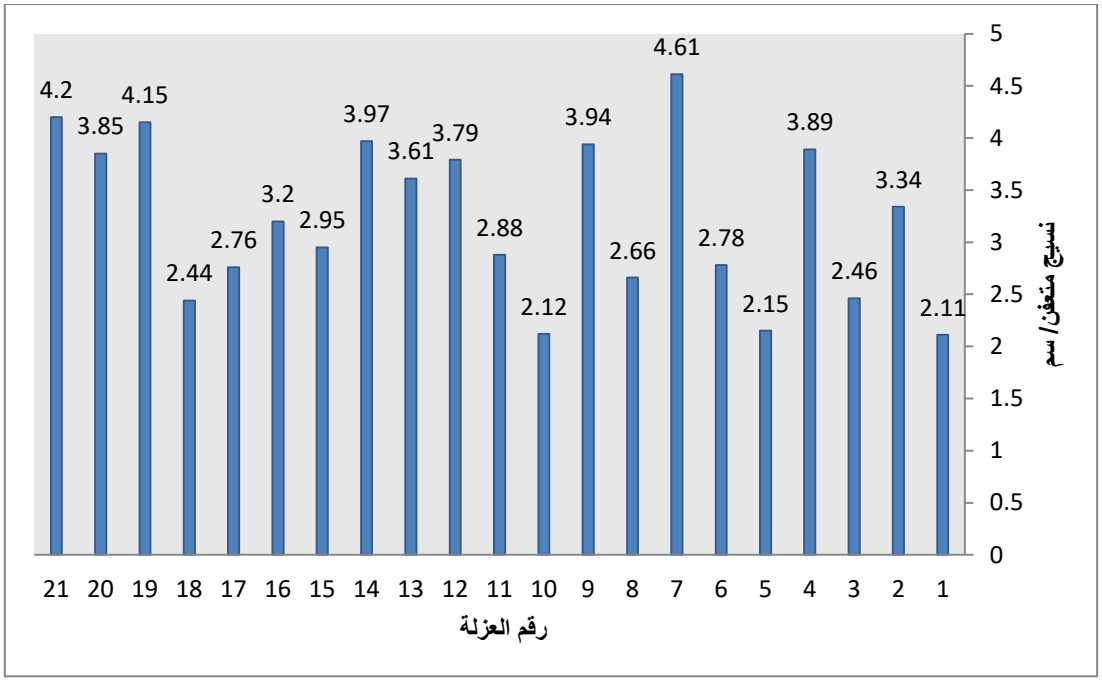
وزن درنات النبات غير القابلة للتسويق (غم. نبات$^{-1}$)

تم وزن الحاصل المتبقي من حاصل النبات القابل للتسويق لنباتات الوحدة التجريبية ثم استخرج المعدل.

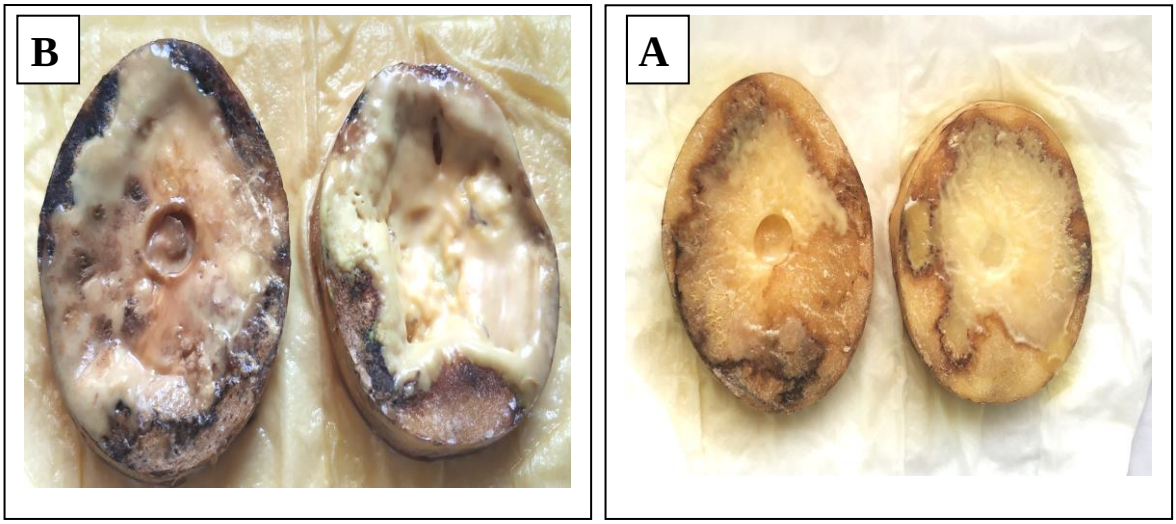
النتائج والمناقشة:

اختبار القدرة الامراضية لعزلات البكتريا المسببة لمرض التعفن الطري

اظهرت نتائج اختبار القدرة الامراضية ان 21 عزلة من عزلات البكتريا المختبرة على شرائح درنات البطاطا السليمة كانت قادرة على احداث المرض وذلك من خلال تحلل الانسجة وانبعاث رائحة كريهة، واظهرت هذه العزلات اختلافات في حجم الجزء المتضرر من شرائح درنات البطاطا إذ تراوحت بين 2.11 و 4.61 سم (شكل 1)، ان العزلة رقم 7 قد سببت اعلى ضرر بلغ 4.61 سم لنسيج شرائح درنات البطاطا وتم اختيارها لإجراء التجارب اللاحقة.



شكل 1 : نتائج اختبار القدرة الامراضية لعزلات البكتريا المسببة لمرض التعفن الطري على شرائح درنات البطاطا.



صورة(1). امراضية العزلة رقم 7 على شرائح درنات البطاطا (A) بعد 3 ايام ، (B) بعد 6 ايام.

التشخيص المظهري والمجهري للمسبب المرضي

اظهرت نتائج التشخيص المظهري و المجهري لعزلات البكتريا انها عصوية الشكل مفردة او في سلاسل ذات لون بني فاتح لماع والحواف مستديرة، غير مكونة للابواغ، سالبة لصبغة غرام وهذ النتائج جاءت متوافقة مع ماذكره Garrity وآخرون (2005) ان هذه البكتريا تعود الى *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum*.

التشخيص الكيموحيوي

اظهرت نتائج التشخيص الكيموحيوي المبينة في جدول (1) ان العزلة رقم 7 تعود الى البكتريا *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* وهذه النتائج تطابقت مع ما توصل اليه Mohammed و Selman (2013) و Gasic وآخرون (2014).

جدول (1) نتائج التشخيص الكيموحيوي للعزلة رقم 7 .

ت	الاختبار	التفاعل
1	الاندول	-
2	الكاتليز	+
3	الاوكسديز	-
4	احمر المثيل	-
5	فوكس-بروسكاور	-
6	استهلاك السترات	-
7	الحركة	+
8	تميع الجيلاتين	+
9	تحلل النشأ	-

أختبار قدرة التضاد بين انواع البكتريا المقاومة والبكتريا الممرضة

اظهرت نتائج اختبار قدرة التضاد بين انواع البكتريا المضادة والبكتريا *P. carotovorum* (عزلة 7) ان نوعي البكتريا 1 *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* 2 كانت اكثر انواع البكتريا قدرة في خفض حجم النسيج المتعفن المتسبب عن البكتريا *P. carotovorum* فقد كانت 0.68 و 0.71 سم نسيج متعفن على التوالي وبفارق معنوي عن جميع العزلات الاخرى ومعاملة السيطرة (ممرض فقط) التي كانت 3.21

سم نسيج متعفن، وبلغت النسبة المئوية لتثبيط العامل الممرض بواسطة نوعي البكتريا 1 *P. fluorescens* و 2 *A. chroococcum* 78.81 و 77.88 % على التوالي (جدول 2).

جدول 2. قدرة التضاد بين عزلات البكتريا المقاومة وعزلة البكتريا الممرضة.

ت	البكتريا المضادة + البكتريا الممرضة Pec.	نسيج متعفن/ سم
1	*Bacillus magaterium* 1 + Pec.	2.65
2	*Bacillus magaterium* 2 + pec.	2.91
3	*Azotobacter chroococcum* 1 + Pec.	2.30
4	*Azotobacter chroococcum* 2 + Pec.	0.71
5	*Mesorhizobium ciceri 1* + Pec.	2.41
6	*Mesorhizobium ciceri 2* + Pec.	2.45
7	*Mesorhizobium ciceri 3* + Pec.	3.11
8	*Pseudomonas fluorescens* 1 + Pec.	0.68
9	*Pseudomonas fluorescens* 2 + Pec.	2.25
10	*Azospirillum brasilense* + Pec.	3.13
11	*Rhizobium sp.* + Pec.	3.20
12	*Bacillus subtilis* + Pec.	2.43
13	Pec. (Pathogenic alone)	3.21
	اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	**0.2761**

النسبة المئوية للإصابة

اشارت نتائج جدول (3) الى تأثير استخدام نوعي البكتريا *A. chroococcum* و*P.fluorescens* في النسبة المئوية لإصابة درنات البطاطا بالبكتريا *P. carotovorum* المسببة لمرض التعفن الطري، إذ لوحظ هناك تفوقاً معنوياً في معاملة استخدام العامل الممرض و خليط نوعي البكتريا *A. chroococcum* و *P.fluorescens*عن باقي المعاملات اذ بلغت 26.6%، تليها معاملة استخدام العامل الممرض مع البكتريا *P.fluorescens* والتي بلغت 36.6% ومن دون فارق معنوي عن معاملة استخدام العامل الممرض مع البكتريا *A. chroococcum* التي بلغت 40% وان جميع المعاملات قد تفوقت معنوياً عن معاملة استخدام العامل الممرض بمفرده إذ بلغت نسبة الاصابة فيها 100%.

جدول 3. تأثير معاملة درنات البطاطا بالبكتريا الممرضة و البكتريا *A. ch.* و *P.f.* وتداخلهما بالطريقة العلاجية على نسبة الإصابة.

	المعاملة	نسبة الاصابة
T1	ماء مقطر فقط	0
T2	البكتريا الممرضة Pec. فقط	100
T3	البكتريا A. ch. فقط	0
T4	A. ch. + Pec.	40
T5	البكتريا P. f فقط	0
T6	P. f + Pec.	36.6
T7	خليط من نوعي البكتريا (A. ch. + P.f) فقط.	0
T8	(A. ch. + P.f) + Pec.	26.6
	اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	7.761

الكلوروفيل الكلي ملغم. لتر $^{-1}$:

اوضحت النتائج في جدول (4) أن معاملة استخدام البكتريا الممرضة بمفردها قد عملت على خفض معنوي في محتوى الكلوروفيل الكلي في نباتات البطاطا إذ بلغ 14.77 ملغم. لتر$^{-1}$ وبفارق معنوي عن جميع المعاملات، واوضحت النتائج ان معاملة استخدام البكتريا *A.chroococcum* قد تفوقت على المعاملات الاخرى في زيادة محتوى الكلوروفيل اذ بلغت 46.59 ملغم. لتر$^{-1}$ ومن دون فارق معنوي عن معاملة استخدام

خليط من نوعي البكتريا *A. chroococcum* و *P.fluorescens* التي بلغت 45.35 ملغم. لتر$^{-1}$.

جدول 4. تأثير معاملة درنات البطاطا بالبكتريا الممرضة والبكتريا A. ch. و P.f. وتداخلهما في محتوى الكلوروفيل الكلي.

	المعاملة	النسبة المئوية للكلوروفيل
T1	ماء مقطر فقط	39.71
T2	البكتريا الممرضة Pec. فقط	14.77
T3	البكتريا A. ch. فقط	46.59
T4	A. ch. + Pec.	36.07
T5	البكتريا P. f فقط	43.93
T6	P. f + Pec.	33.98
T7	خليط من نوعي البكتريا (A. ch. + P.f) فقط.	45.35
T8	(A. ch. + P.f) + Pec.	34.97
	اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	2.122

عدد الدرنات القابلة وغير القابلة للتسويق للنبات الواحد (درنة/ نبات$^{-1}$)

أظهرت نتائج جدول (5) تأثير معاملة درنات البطاطا بالبكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* في عدد درنات النبات الواحد القابلة وغير القابلة للتسويق، أن معاملة استخدام البكتريا الممرضة بمفردها قد تسببت في خفضاً معنوياً في عدد الدرنات القابلة للتسويق إذ بلغت 0.92 درنة/ نبات، وقد اظهرت معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* تفوقاً في عدد الدرنات القابلة للتسويق إذ بلغت 4.5 درنة/ نبات وبفارق معنوي عن جميع المعاملات الاخرى، تليها معاملة استخدام البكتريا *P. fluorescens* التي بلغت 4.12 درنة/ نبات. ومن نفس نتائج جدول (5) نجد ان معاملة استخدام البكتريا الممرضة بمفردها قد تفوقت عن جميع المعاملات الاخرى في عدد درنات النبات الواحد غير القابلة للتسويق إذ بلغت 1.89 درنة/ نبات، وان اقل عدد في الدرنات غير القابلة للتسويق كان 1.09 درنة/ نبات في معاملة استخدام *A. chroococcum* والتي تفوقت معنوياً في خفض عدد الدرنات غير القابلة للتسويق قياساً بجميع المعاملات الاخرى.

جدول 5. تأثير معاملة درنات البطاطا بالبكتريا الممرضة و البكتريا *A. ch.* و *P.f.* وتداخلهما في عدد الدرنات القابلة وغير القابلة للتسويق للنبات الواحد (درنة/ نبات$^{-1}$).

	المعاملة	قابل للتسويق	غير قابل للتسويق
T1	ماء مقطر فقط	4.06	1.25
T2	البكتريا الممرضة Pec. فقط	0.92	1.89
T3	البكتريا A. ch. فقط	4.5	1.09
T4	A. ch. + Pec.	2.63	1.52
T5	البكتريا P. f فقط	4.12	1.31
T6	P. f + Pec.	2.47	1.72
T7	خليط من نوعي البكتريا (A. ch. + P.f) فقط.	4.05	1.48
T8	(A. ch. + P.f) + Pec.	3.28	1.49
	اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	0.3334	0.1401

وزن الدرنات القابل وغير القابل للتسويق (غم. نبات$^{-1}$)

بينت نتائج جدول (6) تأثير استخدام البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* في وزن درنات النبات الواحد القابلة وغير القابلة للتسويق، إذ إن البكتريا الممرضة بمفردها قد قللت من وزن الدرنات القابلة للتسويق حيث بلغت 86.05 غم/ نبات و بفارق معنوي عن جميع المعاملات الاخرى، وقد بلغ اعلى معدل لوزن الدرنات القابلة للتسويق 947.05 غم/ نبات في معاملة استخدام خليط نوعي البكتريا *A.*

chroococcum و *P. fluorescens* مع عدم وجود فارق معنوي مع معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* التي بلغت 928.51 غم/ نبات وبفارق معنوي عن جميع المعاملات الاخرى. واوضحت نتائج جدول (6) تفوق معاملة استخدام البكتريا الممرضة بمفردها في وزن حاصل النبات الواحد غير القابل للتسويق إذ بلغ 77.57 غم/ نبات، فيما اعطت معاملة استخدام البكتريا *A. chroococcum* اقل وزن في حاصل النبات الواحد غير القابل للتسويق بلغ 41.95 غم/ نبات.

جدول 6. تأثير معاملة درنات البطاطا بالبكتريا الممرضة والبكتريا *A. ch.* و *P.f.* وتداخلهما في وزن الدرنات القابلة وغير القابلة للتسويق للنبات الواحد (غم. نبات$^{-1}$).

	المعاملة	قابل للتسويق	غير قابل للتسويق
T1	ماء مقطر فقط	760.34	47.00
T2	البكتريا الممرضة Pec. فقط	86.05	77.57
T3	البكتريا A. ch. فقط	928.51	41.95
T4	A. ch. + Pec.	625.04	46.53
T5	البكتريا P. f فقط	876.72	46.17
T6	P. f + Pec.	553.28	61.38
T7	خليط من نوعي البكتريا (A. ch. + P.f) فقط.	947.05	54.41
T8	(A. ch. + P.f) + Pec.	685.46	47.64
	اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	20.75	8.469

من النتائج المتحصل عليها يتضح أن نوعي البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* وخليطهما المستخدمة في مكافحة مرض التعفن الطري البكتيري المتسبب عن البكتريا *P. carotovorum* كان لها تأثير ايجابي في خفض النسبة المئوية للإصابة بالمسبب المرضي وزيادة محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي وزيادة حاصل النبات الواحد كماً ونوعاً، وتتفق هذه النتائج مع نتائج العديد من الباحثين، إذ وجد Burr وآخرون (1978) أن معاملة درنات البطاطا المقطعة بالبكتريا *P. fluorescens* أدى إلى تثبيط البكتريا المسببة لمرض التعفن الطري *Erwinia carotovora var carotovora* و أدى إلى زيادة كبيرة في نمو وانتاجية نباتات البطاطا، وذكر Cronin وآخرون (1997) ان البكتريا *P. fluorescens* F113 هي عامل تحكم بايلوجي واعد ضد مسبب مرض التعفن الطري *E. carotovora subsp. carotovora* وان قدرة هذه البكتريا على انتاج 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) هو عامل رئيس في تثبيط الممرض، وبين Chauhan وآخرون (2012) ان البكتريا *A. chroococcum* كانت فعالة في المكافحة الحيوية للفطر *Rhizoctonia solani* على القطن والرز وخفضت نسبة الاصابة بهما، و ذكر Verma وآخرون (2001) ان البكتريا *A. chroococcum* اظهرت فعالية في تثبيط الفطر *R. solani* و *Xanthomonas campestris* مختبرياً. ويتضح من النتائج ايضا ان هناك ارتفاع في المحتوى الكلي للكلوروفيل في نباتات البطاطا المعاملة بالبكتريا *P. fluorescens* و *A. chroococcum* وقد يعود سبب محتوى الاوراق من الكلوروفيل إلى ارتفاع النتروجين، الذي له الأثر المهم من خلال وجوده في مركز جزيئة الكلوروفيل، إذ لوحظ أن 70% من نيتروجين الورقة يدخل في تركيب صبغات التمثيل الضوئي وهذا ما يزيد من اخضرار النبات (Moenne-Loccoz وآخرون، 2012)، و تختلف البكتريا في قدرتها على تثبيت النتروجين الجوي فان البكتريا Azotobacter تقوم بتثبيت النتروجين بطريقة حرة free living nitrogen fixation فضلاً عن قدرتها في افراز بعض الهرمونات والانزيمات والفيتامينات ومنظمات النمو، كل هذه المركبات لها دور مهم في نمو النبات (Abd-El-Gawad وآخرون، 2009)، ذكر Sarhan و Abdullah (2010) أن معاملة نباتات البطاطا بالبكتريا Azotobacter أدى إلى زيادة الكلوروفيل الكلي فيها وذكر أنه قد يكون هذا بسبب قدرة هذه البكتيريا على تثبيت النيتروجين وكذلك دورها في زيادة المساحة السطحية للشعيرات الجذرية مما يزيد من مستويات امتصاص العناصر الغذائية، ووجد Jamil وآخرون (2018) ان استخدام البكتريا *P. fluorescens* مع L-tryptophan تركيز 25 جزء بالمليون أدى إلى تحسين كبير في نمو نباتات الحنطة و

زيادة الكلوروفيل A و B تحت ظروف الاجهاد. ووجد Brown و آخرون (1964) أن معاملة العديد من المحاصيل بالبكتريا *A. chroococcum* قد أدى إلى زيادة نموها وانتاجيتها في عدة تجارب، ووجد Arseneault وآخرون (2015) أن معاملة درنات البطاطا بالبكتريا *P. fluorescens* أدى إلى زيادة الانتاج ووزن الدرنات، وبين Frommel وآخرون (1993) أن معاملة درنات البطاطا بالبكتريا *Pseudomonas sp.* قد أدى إلى زيادة حاصل الدرنات ذات الحجم القابل للتسويق.

المصادر:

بوراس، متيادي، ابو ترابي، بسام و البسيط، ابراهيم .2006. انتاج محاصيل الخضر. الجزء النظري .مديرية الكتب والمطبوعات. جامعة دمشق. 466 صفحة.

القرغولي، جبار محسن جابر. 1999. تأثير بكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمعاملة بكبريتات الكالسيوم على مسببي مرض التعفن الطري *Erwinia carotovora var. carotovora* ومرض التعفن الجاف *Fusarium Solani* على درنات البطاطا في الحقل وأثناء الخزن ، اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة- جامعة بغداد- العراق.

Abd El-Gawad, A.M., Hendawey, M.H. and Farag, H.I.A. 2009. Interaction between biofertilization and canola genotypes in relation to some biochemical constituent under Siwa Oasis conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(1): Pp 82:96.

Abdel-Alim, A.I., Mikhail, M.S., Barakat, F.M., Laux, P., Zeller, W. 2002. Biological control of *Erwinia carotovora subsp. carotovora* on potatoes by fluorescent pseudomonas and *Bacillus subtilis*. IOBC/wprs Bull. VOL.25 (6): Pp 139-144.

Arseneault, T., Goyer, C., and Filion, M. 2015. *Pseudomonas fluorescens* LBUM223 Increases Potato Yield and Reduces Common Scab Symptoms in the Field. *Phytopathology*, 105(10): Pp 1311–1317.

Brown, M.E., Burlingham, S, K. and Jackson, R. M. 1964. Effects of artificial inoculation on crop yields. *Plant Soil*, 20:Pp 194-214.

Burr, T.J., Schroth, M.N. , and Suslow, T. 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida. Phytopathology*, 68: Pp 1377-1383.

Chauhan, S., Wadhwa, K., Vasudeva, M. and Narula, N. 2012. Potential of *Azotobacter* spp. as biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporumin* cotton (*Gossypium hirsutum*), guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) and tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58(12): Pp 1365–1385.

Cronin, D., Moënne-Loccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D.N. and O'Gara, F. 1997. Ecological interaction of a bio control *Pseudomonas fluorescens* strain producing 2,4diacetylphloroglucinol with the soft rot potato pathogen *Erwinia carotovora subsp. atroseptica*. *FEMS Microbiology Ecology*, 23(2): Pp 95–106.

des Essarts, Y.R., Cigna, J., Quêtu-Laurent, A., Caron, A., E. Munier, Beury-Cirou, A., Hélias, V. and Faure, D. 2016. Biocontrol of the Potato Blackleg and Soft Rot Diseases Caused by *Dickeya dianthicola*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82 (1): Pp 268-278.

Doolotkeldieva, T., Bobusheva, S. and Suleymankisi, A. 2016. Biological Control of Erwinia carotovora ssp. Carotovora by Streptomyces Species. *Advances in Microbiology*. 6: Pp104-114.

Etminani, F. and Harighi B. 2018. Isolation and Identification of endophytic bacteria with plant growth promoting activity and biocontrol potential from wild Pistachio trees. *Plant. Pathol. J.*, 34: Pp208-217.

Frommel, M.I., Nowak, J. and Lazarovits, G. 1993. Treatment of potato tubers with a growth promotingPseudomonas sp.: Plant growth responses and bacterium distribution in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 150(1): Pp 51–60.

Garrity G.M., Brenner, D. J., Krieg, N.R. and Staley, J.T. 2005. BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology. Second Edition, Volume Two, The Proteobacteria. Part B, The Gammaproteobacteria. *Springer US, Number of Pages*: 1106.

Gasic, K., Gavrilovic, V., Dolovac, N., Trkulja, N., Zivkovic, S., Ristic, D. and Obradovic, A. 2014. *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* – the causal agent of broccoli soft rot in Serbia. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 29(4): Pp 249–255.

Goodwin, T. W. 1976. Chemistry & Biochemistry of Plant pigment. 2nd Academic. Press, Landon. New York. San Francisco. P 373.

Jamil, M., Ahamd, M., Anwar, F., Zahir, Z. A., Kharal, M. A. and Nazli, F. 2018. Indusing Drought Tolerance in Wheat through Combined Use of L-Tryptophan and *Pseudomonas fluorescens*. *Pak. J. Agri. Sci.*, 55(2): Pp 331-337.

Kamysz, W., Krolicka, A., Bogucka, K., Ossowski, T., Lukasiak, J. and Lojkowska, E. 2005. Antibacterial activity of synthetic peptides against plant pathogenic Pectobacterium species. *Journal of Phytopathology*, 153: Pp 313-317.

Moenne-Loccoz, Y., Ommati, F. and Zaker, M. 2012. Evaluation of some Trichoderma isolates for biological control of potato wilt disease (*Fusarium oxysporum*) under lab. And green house conditions. *Journal of Crop Protection*, 1 (4): Pp 279-286.

Mohammed, M.J. and Selman, E.D. 2013. Detection of local Erwinia Isolates Causing Disease in Potato by Using DNA Amplification by Polymerase Chain Reaction Technique (PCR). *Journal of Al-Nahrain University*, 16(3): Pp 224-229.

O'Brien, P.A. 2017. Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*. Volume 46, Issue 4, Pp 293–304.

Sarhan, T. and Abdullah, O.K. 2010. Effect of Azotobacter Inoculation, Dry Bread Yeast Suspension and Varying Levels of Urea on Growth of Potato cv. Desiree. Tropentag, September 14 - 16, in Zurich "World Food System – A Contribution from Europe.

Sigee, D.C. 1993. Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspects. Cambridge University Press, Cambridge.

Verma, S., Kumar, V., Narula, N. and Merbach, W. 2001. Studies on *in vitro* Production of antimicrobial substances by *Azotobacter chroococcum* isolates/mutants, Journal of Plant Disease and Protection, 108(2): Pp 152-165.