اختبار كفاءة بكتريا الـ *Pseudomonas fluorescens* في تحفيز نمو نبات الذرة الصفراء *Zea mays* L. واستحثاث مقاومته الجهازية ضد مرض التعفن الفحمي

عبدالكريم عربي سبيع* وعبدالله عبدالكريم حسن** وهبة محمد يوسف¹

* أستاذ دكتور - قسم علوم التربة والموارد المائية - كلية الزراعة - جامعة تكريت

**أستاذ دكتور - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة تكريت

الخلاصة

انتخبت ثلاث عزلات في تجربة اصص لتقييم مدى كفاءة بكتريا *P. fluorescens* (P.f12، P.f14، P.f16) والمبيد توبسين في بعض مؤشرات النمو لنبات الذرة الصفراء واستحثاث مقاومته الجهازية ضد مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *M. Phaseolina*، وبينت نتائج التجربة بأن التلقيح بسلاطات بكتيريا الزوائف الومضائية الـ *P. fluorescens* سواء كانت لوحدها أو بتداخلها مع المبيد Topsin أدى الى حدوث زيادة معنوية في نسبة الإنبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري وتوقفت المعاملة التي استعمل فيها فطر *M. Ph* مع مبيد توبسين والسلالة البكتيرية P16 في تسجيل أفضل النتائج إذ بلغت نسبة الإنبات 93.30% والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري 13.38 غم.نبات⁻¹، 3.797 غم.نبات⁻¹، مقارنة بمعاملة الفطر الممرض لوحده والتي بلغت نسبة الإنبات والوزن الجاف للجزء الخضري والجذري فيها 42.20% و3.53 غم.نبات⁻¹ و 1.853 غم.نبات⁻¹ على التتابع، أثبتت السلالة P.f16 كفاءتها شدة الإصابة بالفطر *M. Phaseolina* سواء اضيفت لوحدها أو مع المبيد Topsin. سجل التداخل بين البكتريا والفطر الممرض والمبيد أعلى زيادة في الفعالية النوعية لإنزيمات البيروكسيداز Peroxidase والكاييتينيز Chitinase، إذ بلغت 11.20، 180.0، (وحدة/ملغ بروتين) على التتابع في معاملة P.f16+الممرض+المبيد.

الكلمات المفتاحية:

بكتريا الـ *fluorescens*

Pseudomonas، نبات

الذرة الصفراء، مرض التعفن

الفحمي.

للمراسلة:

عبدالكريم عربي سبيع

البريد الإلكتروني:

alkurtany@yahoo.com

الاستلام: 2016/12/13

القبول: 2017/3/29

Evaluation of *fluorescens Pseudomonas* efficacy for promoting corn *zea mays*l. Growth and induction of it systematic resistance against charcoal rot disease

Abdul Kareem E.S. Alkurtany* ; Abdullah A. Hassan** and Hiba Mohammed Yousef

*Prof. Dr.- Department of Soil Sciences & Water Resources-College of Agriculture- Tikrit University

**Prof. Dr.- Department of Plant Protection-College of Agriculture- Tikrit University

ABSTRACT

Keywords:

Pseudomonas fluorescens
, *M. Phaseolina*, *Zea mays*
L.

Corresponding Author:

Abdul Kareem E.S.

Alkurtany

E-mail:

alkurtany@yahoo.com

Received: 13/12/2016

Accepted: 29/3/2017

Three *P. fluorescens* isolates coding P. f12 ,P.f 14 and P.f 16 were selected in pots experiment for evaluation of their efficiency and fungicides Topsin in some *Zea mays* growth parameters and systemic resistance induction against the charcoal rot disease caused by *M. phaseolina*. The results showed the inoculation with all *P. fluorescens* isolates alone and with the Topsin led to a significant increase in seed germination percentage and the dry weight of root and shot system. The *P. fluorescens* (P.f 16) isolate with the Topsin in present of the pathogen *M. phaseolina* superior on the other treatment which give the best results, in which germination percentage was 93.3%, the dry weight of root and shot system were 13.38 and 3.797 g.plant⁻¹ compared with the pathogen alone resulting in 42.2%,3.53 and 1.853 g.plant⁻¹, respectively. The *P. fluorescens* (P.f 16) isolate alone or with the Topsin led to decrease in the infection severe of pathogen *M. phaseolina*. The interaction between the *P. fluorescens* (P.f 16) and Topsin in present of the pathogen *M. phaseolina* induced the systemic resistance, this treatment gives highest specific activity of the peroxidase (11.2 unit.mg protein⁻¹) and chitinase (180 unit.mg protein⁻¹).

¹ البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثالث

المقدمة:

تعد الـ *P. fluorescens* من أهم أنواع الجنس *Pseudomonas* والتي تتواجد بكثرة في منطقة الرايزوسفير للنبات (Lucas ، 2001) والتي تحفز نمو النبات بعدة آليات، إذ لها القدرة على إنتاج مركبات بيلوجية محفزة لنمو النبات كما لها القدرة على إذابة الفسفور وزيادة جاهزيته في التربة، فضلاً عن إنتاجها للهرمونات النباتية مثل Indol-3-acetic acid وحوامض عضوية مثل Succinic acid و Lactic acid والتي تزيد من نمو النبات (Henri وآخرون، 2008، Khan و Joergensen، 2009) ، إذ تعمل بكتريا *P. fluorescens* إلى إنتاج الهرمونات النباتية كـ (IAA) التي تحفز نمو النباتات وذلك لتحفيزها نمو الجذور فقد وجد Mecra و Balabasker (2012) أن الـ IAA المنتج بواسطة السلالة *P.F.13* أدى إلى زيادة تحفيز نمو نبات الرز وذلك من خلال زيادة طول الجذر، أثبتت الكثير من الدراسات قدرة البكتريا *P. fluorescens* على كبح تطور الكثير من مسببات الأمراض النباتية خاصة الفطرية منها فضلاً عن زيادة نمو وإنتاج العديد من المحاصيل الزراعية التي خضعت للاختبار إذ خفضت بكتريا الـ *P. fluorescens* من شدة الإصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* على محصول البطيخ إلى 41.7% مقارنة بمعاملة الفطر لوحده التي بلغت 74.9% (الهاشمي، 2011). عند استخدام المستحضر الأحيائي *P. fluorescens* في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* أدى إلى خفض نمو قطر المستعمرة الفطرية وبلغت نسبة التثبيط 58.43% مقارنة بمعاملة المقارنة إذ بلغت 0% (الشي ومحمود ، 2014). وبالنظر لأهمية بكتريا *Pseudomonas fluorescens* وتنوع آليات تأثيرها في تحفيز نمو النبات وتثبيط الممرضات التي يتعرض إليها، فقد أجريت هذه الدراسة التي هدفت إلى: تقييم فعالية ثلاثة سلالات بكتريا *P. fluorescens* والمبيد الكيماوي التوبسين وتتداخلهما ضد الفطر الممرض *Macrophomina phaseolina*.

المواد وطرائق البحث:

تحضير لقاح البكتريا *P. fluorescens*

اختيرت ثلاث سلالات تعود جميعها للنوع *P. fluorescens* وهي (*P.f12*، *P.f14*، *P.f16*) وهذه السلالات معزولة محلياً ومخصصة من قبل الباحث وذات كفاءة عالية في إنتاج الاندول وصبغة البايوفردين وإنتاجها للمركبات الخالبة للحديد وإذابة الفسفور. وتم تحضير اللقاح البكتيري كالاتي: حضر لتر واحد من وسط KB السائل King's Medium Broth (king's) وآخرون، (1954) ووزع في دوارق زجاجية حجم 100مل، عقم الوسط بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121⁰ م وضغط 1.5 بار لمدة 30 دقيقة، لقحت الدوارق بعد عملية التعقيم بالبكتريا وحضنت على درجة حرارة 27±1م لمدة 48 ساعة (Bakker وآخرون، 1986)، حضرت سلسلة التخافيف (10^{-1} - 10^{-8}) في أنابيب زجاجية معقمة، زرع اللقاح البكتيري المخفف (10^{-8}) في طبق بتري بطريقة الخلط مع الوسط الغذائي PDA لحساب العدد الكلي للمستعمرات وبمعدل 1 مل لقاح / طبق حسب معدل عدد المستعمرات النامية في الأطباق وضرب في مقلوب التخفيف (Clark، 1965)، وبذلك يكون التركيز المستخدم للسلالات الثلاثة ($10^9 \times 1$) CFU / مل لقاح.

تحضير لقاح الفطر *Macrophomina phaseolina*

نميت عزلات الفطر على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* L. بعد أن تم غسلها جيداً لإزالة الأتربة والشوائب العالقة بها ثم رطبت لمدة 6 ساعات، جففت بعدها على درجة حرارة المختبر وضع 100 غرام من هذه البذور في دورق سعة 250 مل وأضيف إليها قليل من الماء وعقمت بالموصدة على درجة حرارة 121⁰ م وضغط 1.5 بار لمدة نصف ساعة، لقحت الدوارق بعد التبريد بلقاح عزلت الفطر *M. Phaseolina* ووضعت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2⁰ م لمدة 10 أيام مع مراعاة رج الدوارق كل 2-3 يوم لضمان توزيع اللقاح الفطري بداخل الدورق فضلاً عن عدم تكثفه (Dewan و Sivasithanparam، 1989).

تنفيذ التجربة :

استخدمت في هذه التجربة تربة مزيجة حلت صفاتها الفيزيائية والكيميائية والحيوية جدول (1). عقت التربة بجهاز المؤصدة حسب (Bashan وآخرون، 1995) وضعت في أصص بلاستيكية وبمعدل 8كغم أصيص⁻¹ ثم سمدت بكمية 300كغم N⁻¹ ه⁻¹ على هيئة سماد اليوريا 46% N و 200 كغم P⁻¹ ه⁻¹ على هيئة سوبر فوسفات الكالسيوم الثلاثي 21% P و 200 كغم K. ه⁻¹ على هيئة كيريتات البوتاسيوم 41% K ، استخدمت بذور الذرة الصفراء (*Zea mays L.*) صنف Zp684 يوغسلافي مستورد مسجل ومعتمد نفذت التجربة كتجربة عاملية بنظام الالواح المنشقة_المنشقة Split_split plot design اذ اعتبرت البكتريا *P. fluorescens* عامل رئيسي بأربع مستويات (*P.f 12* ، *P.f 14* ، *P.f 16* ، بدون بكتريا) وتضمنت القطع الثانوية الفطر *M.Ph* بمستويين (بدون فطر، مع الفطر) في حين تضمن العامل الاقل أهمية المبيد Topsin بمستويين (بدون مبيد، مع المبيد) حلت النتائج إحصائيا حسب التصميم المستخدم وباستعمال الحاسوب الالكتروني باستخدام برنامج GENSTAT، وتم اختبار المتوسطات باستعمال اختبار L.S.D عند مستوى احتمال 5% (المحمدي والمحمدي، 2012). وأستخدم مبيد التوبسين (Topsin M70 WP) وبالتراكيز الموصى بها (1 غم.لتر⁻¹) والمجهز من شركة دبانة.

جدول (1) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية والإحيائية للتربة قبل الزراعة

الوحدة	الصفة
1.2	الإيصالية الكهربائية (EC) ds.m ⁻¹
6.8	درجة التفاعل (PH) -
12	السعة التبادلية الكاتيونية (CEC) Cmol.Kg ⁻¹ soil
12	المادة العضوية (O.M) g.kg ⁻¹
8	الكلس (CaCO ₃)
4	الجبس (CaSO ₄)
48	النيتروجين الجاهز (N) mg.kg ⁻¹
10	الفسفور الجاهز (P)
56	البوتاسيوم الجاهز (K)
1.18	الكثافة الظاهرية (B.D) g.cm ⁻³
50	الرمل
34	الغرين
16	الطين
	النسجة Loamy
3.0 * 10 ⁴	البكتريا الكلية
2.5 * 10 ³	الفطريات الكلية
0.82 * 10 ⁴	بكتريا السيدوموناس

الصفات المدروسة :

نسبة الإنبات %، شدة الإصابة حسب (Mckinney، 1923)، وقياس الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري و قدرت مؤشرات المقاومة الجهازية في نهاية التجربة اي بعد 45 يوم والتي شملت تقدير البروتينات المتعلقة بالمرض Pathogen Related Proteins (PRP) وهي البيروكسيداز (Hammerschmidt وآخرون، 1982) والكايتينيز Chitinase (Tweddell وآخرون ، 1994).

النتائج والمناقشة:

نسبة الإنبات:

أوضحت النتائج في الجدول (2) إن تلقيح البذور بعزلات بكتريا *P. fluorescens* كان معنويا في زيادة نسبة الإنبات مقارنة بالمعاملة غير الملقحة، إذ أعطت المعاملة بالعزلة P16 أعلى نسبة إنبات بلغت 86.64% تليها المعاملة بالعزلة P14 82.74%، ثم المعاملة بالعزلة P12 التي بلغت نسبة الإنبات فيها 79.98%، مقارنة بعدم وجود البكتريا والتي بلغت نسبة الإنبات فيها 71.64%. بينت النتائج في تأثير المعاملة بالفطر الممرض ان المعاملة بدون وجود الفطر أعطت زيادة مئوية مقدارها 4.25% على النباتات المعاملة بالفطر، أما فيما يخص تأثير المبيد فيلاحظ من نتائج الجدول وجود فروق معنوية إذ أعطت المعاملة بالمبيد نسبة إنبات قدرها 83.03% مقارنة بعدم وجود بالمبيد التي بلغت نسبة الإنبات فيها 77.48% .

جدول (2) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (P.f.16، P.f.14، P.f.12) والمعاملة بالمبيد Topsin في نسب

إنبات بذور الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*

T× M داخل	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
85.53	91.07	84.43	84.43	82.20	T ₀	M ₀
78.31	80.00	77.73	75.53	79.97	T	
69.42	82.20	79.97	73.30	42.20	T ₀	M
87.74	93.30	88.83	86.63	82.20	T	
معدل تأثير M						
81.92	85.53	81.08	79.98	81.08	M ₀	تداخل P×M
78.58	87.75	84.40	79.97	62.20	M	
معدل تأثير T						
77.48	86.63	82.20	78.87	62.20	T ₀	تداخل P×T
83.03	86.65	83.28	81.08	81.08	T	
معدل تأثير P						
	86.64	82.74	79.98	71.64		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% تريا
9.48	5.33	6.27	7.854	2.998	4.78	5.34

P16، P14، P12 =عدم وجود البكتريا P₀=عدم وجود الفطر الممرض ، M₀=عدم وجود الفطر الممرض ، M=الفطر الممرض ، T₀= بدون مبيد ، Topsin=T

=عزلات بكتريا *P. fluorescens*

أما عن تأثير التداخل الثنائي بين الفطر والبكتريا فُتبين النتائج وجود فروق معنوية، وأعطت معاملة البكتريا P16 بوجود الفطر الممرض أعلى نسبة إنبات بلغت 87.75% ، تليها معاملة بالبكتريا P14 بوجود الفطر الممرض التي بلغت نسبة الإنبات فيها 84.40% وتليها معاملة البكتريا P12 بوجود الفطر الممرض بنسبة إنبات بلغت 79.97% مقارنة مع غير المعاملة بالبكتريا ومعاملة بالفطر التي بلغت نسبة إنباتها 62.20%. أما فيما يخص التداخل بين المبيد والبكتريا فأظهرت النتائج وجود فروق معنوية وإن أعلى نسبة إنبات سجلت في معاملة البكتريا P16 بوجود المبيد والتي بلغت 86.65% في حين سجلت أقل نسبة إنبات عند عدم وجود البكتريا والمبيد إذ بلغت 62.20%، أوضحت النتائج في تأثير التداخل الثنائي بين الفطر والمبيد وجود فروق معنوية إذ أعطت معاملة الفطر والمبيد أعلى نسبة إنبات بلغت 87.74% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض مع عدم وجود المبيد والتي سجلت نسبة إنبات قدرها 69.42%. أما فيما يخص التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد فيلاحظ وجود فروق معنوية إذ سجلت معاملة

البكتريا P16 مع وجود الفطر والمبيد أعلى نسبة إنبات بلغت 93.30%، وأقل نسبة إنبات سجلت في معاملة الفطر الممرض فقط (بدون وجود البكتريا والمبيد) والتي بلغت 42.20%.

إن كفاءة البكتريا *P. fluorescens* في زيادة نسبة إنبات البذور تعزى إلى القدرة على إفراز محفزات النمو مثل الحوامض العضوية و IAA مما يساعد في زيادة نسبة الإنبات وتحسين نمو النبات ، كذلك تعزى إلى فعالية بكتريا *P. fluorescens* في مقاومة المسبب المرضي إلى الآليات التي تملكها في مقاومة المسببات المرضية إذ لها القدرة على كبح نشاط المسبب المرضي *M.phaseolina* من خلال أنتاج سلسلة من المركبات المضادة للمسببات المرضية منها Siderophores، Hydergen، Alamonia، cyanide، Pyrrolnitrin، Phenazin-1-carboxylicacid (Validov وآخرون، 2005)، و قد تعزى فعالية بكتريا *P. fluorescens* في مقاومة المسبب المرضي *M.phaseolina* ناتجة عن نشاط هذه البكتريا في تعزيز بناء جدران خلايا العائل وجعل النسيج النباتي أكثر تماسكا مما يضعف قابلية المسبب المرضي من غزو الأنسجة النباتية (Dwivedi و Johri، 2003). إن الفعالية العالية للمعاملة المزوجة للعاملين الكيميائي والإحيائي قياساً بفعالية المعاملة المنفرد يمكن أن تعزى إلى فعالية هذه المبيدات الكيميائية في تعزيز دور المقاوم الإحيائي إذ تعمل المبيدات الكيميائية على زيادة فرص بقاء العامل الإحيائي في الحقل من خلال تقليل كثافة الأحياء المجهرية المنافسة لها على الغذاء عن طريق منعها نمو هذه الأحياء بالتالي زيادة الكميات المتاحة من العناصر الغذائية للعوامل الأحيائية في الوسط المحيط (Turco و Silger، 2002). هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه الهاشمي (2011) إلى ان أعلى نسبة إنبات كانت في معاملة مبيد الفلنت مع المقاوم الإحيائي *P. fluorescens* بوجود الفطر الممرض *M.phaseolina*.

الوزن الجاف للمجموع الخضري:

يبين الجدول (3) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* الثلاث والمبيد توبسين في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*، وتوضح النتائج بأن التلقيح ببكتريا *P. fluorescens* قد أثر معنوياً في زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري، إذ أعطت المعاملات الملقحة متوسط وزن جاف للمجموع الخضري بلغ 9.50 و 10.17 و 10.84 غم/نبات⁻¹ للمعاملات P12 ، P14 ، P16 على التتابع. في حين كان متوسط الوزن الجاف للمعاملة غير الملقحة 6.65 غم/نبات⁻¹. بينت النتائج في تأثير المعاملة بالفطر من عدمها إن المعاملة بدون وجود الفطر أعطت أعلى متوسط لوزن المجموع الخضري الجاف بلغ 9.37 غم/نبات⁻¹ مقارنة مع معاملة وجود الفطر إذ بلغ متوسط وزن المجموع الخضري الجاف فيها 9.21 غم/نبات⁻¹.

كذلك أشارت النتائج إن تأثير المعاملة بالمبيد قد أثر معنوياً في زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري إذ أعطت معاملة المبيد متوسط وزن جاف للمجموع الخضري بلغ 10.24 غم/نبات⁻¹ بينما معاملة عدم وجود المبيد بلغ متوسط الوزن الجاف فيها 8.34 غم/نبات⁻¹. أظهرت نتائج الجدول (3) كذلك الى وجود فروق معنوية في تأثير التداخل الثنائي بين الفطر والبكتريا ، وأعطت معاملة البكتريا P16 بوجود الفطر أعلى متوسط وزن جاف للمجموع الخضري بلغ 11.16 غم/نبات⁻¹ في حين كان متوسط الوزن الجاف لمعاملة الفطر بدون بكتريا 6.37 غم.نبات⁻¹، بزيادة مئوية بلغت 75.19% عند مقارنة أعلى القيم نسبة إلى أقل القيم.

نتج عن التداخل بين المبيد والبكتريا فروق معنوية في الوزن الجاف للمجموع الخضري إذ تفوقت معاملة عزلة البكتريا P16 بوجود المبيد في إعطاء أعلى متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 11.61 غم/نبات⁻¹ مقارنة بعدم وجود المبيد والبكتريا التي أعطت أقل متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 5.27 غم/نبات⁻¹.

أما فيما يخص التداخل بين الفطر والمبيد فقد بينت النتائج تفوق معنوي في الوزن الجاف للمجموع الخضري للنبات، إذ أعطت معاملة الفطر الممرض والمبيد أعلى متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 11.51 غم/نبات⁻¹ بينما أعطت معاملة بالفطر الممرض مع عدم وجود المبيد أقل متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 6.91 غم/نبات⁻¹. أما في حالة التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد فقد أثر معنوياً في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء إذ تفوقت معاملة عزلة البكتريا

P16 مع وجود الفطر والمبيد إذ أعطت أعلى متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 13.38 غم/نبات⁻¹، في حين أعطت معاملة الفطر الممرض لوحده أقل متوسط وزن للمجموع الخضري الجاف بلغ 3.53 غم/نبات⁻¹.

جدول (3) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (P.f.16، P.f.14، P.f.12) والمعاملة بالمبيد Topsin في الوزن الجاف للمجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*

تداخل T× M	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
9.77	11.18	10.94	9.95	7.02	T ₀	M ₀
8.96	9.85	9.84	9.32	6.84	T	
6.91	8.94	7.87	7.28	3.53	T ₀	M
11.51	13.38	12.01	11.46	9.21	T	
معدل تأثير M						
9.37	10.51	10.39	9.63	6.93	M ₀	تداخل P×M
9.21	11.16	9.94	9.37	6.37	M	
معدل تأثير T						
8.34	10.06	9.41	8.62	5.27	T ₀	تداخل P×T
10.24	11.61	10.92	10.39	8.02	T	
معدل تأثير P						
	10.84	10.17	9.50	6.65		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% تريا البك
1.60	0.83	1.08	0.84	0.71	0.52	0.53

P16، P14، P12 = عدم وجود البكتريا P₀ = عدم وجود الفطر الممرض، M₀ = عدم وجود الفطر الممرض، T₀ = بدون مبيد، Topsin = T،
عزلات بكتريا *P. fluorescens* =

الوزن الجاف للمجموع الجذري:

يوضح الجدول (4) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* الثلاث والمبيد توبسين في الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina* وتبين النتائج بأن التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* تفوق معنوياً على المعاملة غير الملقحة بالبكتريا إذ أعطت معاملة البكتريا P16 أعلى متوسط لوزن المجموع الجذري الجاف بلغ 3.190 غم/نبات⁻¹، تليها معاملة البكتريا P14 بمتوسط وزن مجموع جذري جاف 3.018 غم/نبات⁻¹ ثم معاملة البكتريا P12 غم/نبات⁻¹ التي أعطت متوسط وزن للمجموع الجذري الجاف بلغ 2.880 غم/نبات⁻¹ مقارنة بالمعاملة غير الملقحة بمتوسط وزن مجموع جذري جاف 2.275 غم/نبات⁻¹، وبينت النتائج في تأثير المعاملة بالفطر إن المعاملة بدون وجود الفطر الممرض أعطت أعلى متوسط لوزن المجموع الجذري الجاف بلغ 2.854 غم/نبات⁻¹ مقارنة بمعاملة الفطر التي بلغ متوسط المجموع الجذري الجاف فيها 2.828 غم/نبات⁻¹. وقد كان تأثير المبيد معنوياً حيث أزداد الوزن الجاف للمجموع الجذري لمعاملة المبيد بزيادة مئوية مقدارها 13.68% عن معاملة عدم وجود المبيد، أما عن تأثير التداخل بين الفطر والبكتريا فقد كان معنوياً أيضاً إذ تفوقت معاملة الفطر والبكتريا P16 بإعطائها أعلى متوسط وزن للمجموع الجذري الجاف بلغ 3.203 غم/نبات⁻¹ مقارنة بمعاملة الفطر بدون بكتريا التي بلغ متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري فيها 2.290 غم/نبات⁻¹. وأوضحت النتائج في إن التداخل بين المبيد والبكتريا قد أثر معنوياً في الوزن الجاف للمجموع الجذري وكانت قيم التداخل أعلى من قيم التلقيح بالبكتريا منفردة أو المبيد منفرد، وتفوقت معاملة البكتريا P16 بوجود المبيد في إعطاء أعلى متوسط لوزن للمجموع الجذري الجاف بلغ مقداره 3.392 غم/نبات⁻¹ مقارنة بعدم وجود البكتريا والمبيد والتي أعطت وزن جاف للمجموع الجذري مقداره 2.068 غم/نبات⁻¹.

جدول (4) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (P.f.16، P.f.14، P.f.12) والمعاملة بالمبيد Topsin في الوزن الجاف للمجموع الجذري لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*

تداخل T× M	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
2.954	3.367	3.167	3.000	2.283	T ₀	M ₀
2.754	2.987	2.957	2.837	2.237	T	
2.363	2.610	2.597	2.393	1.853	T ₀	M
3.292	3.797	3.353	3.290	2.727	T	
معدل تأثير M						
2.854	3.177	3.062	2.918	2.260	M ₀	تداخل P×M
2.828	3.203	2.975	2.842	2.290	M	
معدل تأثير T						
2.659	2.988	2.882	2.697	2.068	T ₀	تداخل P×T
3.023	3.392	3.155	3.063	2.482	T	
معدل تأثير P						
	3.190	3.018	2.880	2.275		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% تريا
0.663	0.333	0.472	0.363	0.291	0.196	0.291

Topsin=T، T₀= بدون مبيد ، M=الفطر الممرض ، M₀=عدم وجود الفطر الممرض P₀=عدم وجود البكتريا P16، P14، P12
عزلات بكتريا *P. fluorescens*=

وكان لتأثير التداخل بين الفطر والمبيد فروق معنوية في الوزن الجاف للمجموع الجذري إذ تفوقت معاملة الفطر والمبيد بإعطاء أعلى متوسط للوزن الجاف للجذور بلغ 3.292 غم/نبات⁻¹ على معاملة الفطر مع عدم وجود المبيد التي بلغ متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري فيها 2.363 غم/نبات⁻¹، بزيادة مئوية مقدارها 39.31%. أما معاملات التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد فقد أظهرت إنها حققت أعلى وزن جاف للمجموع الجذري وبدرجة معنوية، فقد كان متوسط الوزن الجاف للجذور في معاملات التداخل لمعاملة عزلة البكتريا P16 بوجود الفطر والمبيد ومعاملة عزلة البكتريا P14 بوجود الفطر والمبيد، ومعاملة عزلة البكتريا P12 بوجود الفطر والمبيد 3.797 و 3.353 و 3.290 غم/نبات⁻¹ على التتابع، أما معاملة الفطر الممرض فقط (بدون وجود البكتريا والمبيد) فقد بلغ متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري فيها 1.853 غم/نبات⁻¹.

تعمل البكتريا الأحيائية *P. fluorescens* على زيادة جاهزية العناصر الغذائية في المنطقة المحيطة بالجذور التي تستوطنها البكتريا (Nelson، 2004) فتعمل على تحفيز نمو النبات كما قد يكون تحفيز النمو من خلال أنتاجها للمركبات ذات التأثيرات الهرمونية مثل حامض السالسليك الذي بدوره يحفز إنتاج هرمونات النمو كالأوكسين والجبرلين التي تقيد نمو المحاصيل والتي يكون لها تأثير في زيادة طول النبات ووزن المجموع الجذري والخضري (Shehata وآخرون، 2012) أو قد يكون التحفيز من خلال آليات استحثاث المقاومة الجهازية لمقاومة المسبب المرضي (Maurhofer وآخرون، 1994). إن الزيادة في تحسين نمو المجموعين الخضري والجذري عند استخدام العامل الإحيائي في مقاومة المسبب المرضي بجانب المبيدات الكيميائية، يعزى إلى الفعل التآزري في مقاومة المسبب المرضي إذ تشكل المبيدات الكيميائية قوة إضافية دامة لعمل العوامل الإحيائية ضد المسببات المرضية المحمولة بالتربة (Locke وآخرون، 1985)، وهذا يتيح فرصة استخدام المبيدين الكيميائي والإحيائي معا استعمالا متكاملًا لمقاومة الفطر *M.phaseolina* وفطريات التربة الأخرى من خلال التوافق بين العوامل الكيميائية والعوامل الإحيائية في حماية

النبات من الإصابة، وبالتالي زيادة فرصة مقاومة المسبب المرضي بشكل أكثر كفاءة قياساً باستعمال العوامل الكيميائية والإحيائية كلا على حده .

شدة الإصابة بالفطر:

يوضح الجدول (5) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* الثلاث والمبيد توبسين في شدة الإصابة لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*، وتشير النتائج إلى وجود فروق معنوية في المعاملات الملقحة ببكتريا *P. fluorescens* مقارنة بغير الملقحة إذ أعطت المعاملة غير الملقحة أعلى شدة إصابة بلغت 0.2717، في حين أعطت المعاملات الملقحة شدة إصابة أقل بلغت 0.2200 و 0.2025 و 0.1375 للمعاملات P12 و P14 و P16 على التوالي. وبينت النتائج في تأثير المعاملة بالفطر إلى وجود فروق معنوية، إذ بلغت أعلى شدة إصابة 0.4158 في النباتات المعاملة بالفطر، من جانب اخر أعطت معاملة المبيد شدة إصابة بلغت 0.1796 مقارنة بعدم وجود المبيد التي بلغت فيها 0.2363. أوضحت النتائج وجود فروق معنوية في تأثير التداخل الثنائي بين الفطر والبكتريا إذ أعطت معاملة الفطر بدون بكتريا أعلى شدة إصابة بلغت 0.5433 وأقل شدة إصابة كانت في معاملة الفطر بوجود عزلة البكتريا P16 والتي بلغت 0.2750. يلاحظ من التداخل الثنائي بين المبيد والبكتريا وجود فروق معنوية وأعطت معاملة عزلة البكتريا P16 بوجود المبيد أقل شدة إصابة بلغت 0.1200 في حين سجلت أعلى شدة إصابة بلغت 0.3483 عند عدم وجود البكتريا والمبيد. وفيما يخص التداخل بين الفطر والمبيد فإن إضافة المبيد للفطر الممرض حقق زيادة معنوية في خفض شدة الإصابة، إذ بلغت شدة الإصابة في معاملة الفطر بوجود المبيد 0.3592 مقارنة مع معاملة الفطر بدون المبيد والتي بلغت شدة الإصابة فيها 0.4725. أما عن تأثير التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد فقد كان معنوياً في خفض شدة الإصابة إذ أعطت معاملة الفطر الممرض لوحده أعلى شدة إصابة بلغت 0.6967 مقارنة مع معاملة العزلة P16 بوجود الفطر والمبيد والتي بلغت شدة الإصابة فيها 0.2400.

جدول (5) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (P.f.16، P.f.14، P.f.12) والمعاملة بالمبيد Topsin في شدة الإصابة لنبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*

تداخل T× M	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	T ₀	M ₀
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	T	
0.4725	0.3100	0.4200	0.4633	0.6967	T ₀	M
0.3592	0.2400	0.3900	0.4167	0.3900	T	
معدل تأثير M						
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	M ₀	تداخل P×M
0.4158	0.2750	0.4050	0.4400	0.5433	M	
معدل تأثير T						
0.2363	0.1550	0.2100	0.2317	0.3483	T ₀	تداخل P×T
0.1796	0.1200	0.1950	0.2083	0.1950	T	
معدل تأثير P						
	0.1375	0.2025	0.2200	0.2717		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% تريا
0.07	0.03	0.05	0.06	0.02	0.03	0.04

Topsin=T ، بدون مبيد ، M=الفطر الممرض ، M₀=عدم وجود الفطر الممرض ، P₀=عدم وجود البكتريا P16، P14، P12
عزلات بكتريا *P. fluorescens*=

أن بكتريا الـ *P. fluorescens* هي إحدى العوامل المحفزة لنمو النبات فضلا عن دورها في زيادة جاهزية بعض المغذيات لاسيما الفسفور لذا فإن النبات يصبح أكثر مقاومة للمسببات المرضية لاستخدامها آليات كفاءة في كبح المرض، وقد لوحظت الفعالية المضادة لبكتريا *P. fluorescens* في المحيط الجذري وعرفت بوصفها عاملا مهما في كبح نمو العديد من المسببات المرضية للنبات وشخصت العديد من المواد الشبيهة بالمضادات الحياتية مثل bacteriocins و Phenazine ووجود بعض المواد الأيضية المفترزة من قبل بكتريا *P. fluorescens* والتي تزيد من قدرتها في مقاومة الامراض التي تسببها فطريات التربة وتعرف هذه المادة 2,4 diacetylphloroglucinol (Schnider وآخرون، 1995) ، إن شدة الإصابة هي معيار إمرضية المسبب المرضي ويمكن إعتبارها مؤشرا لعوامل المكافحة الحيوية، إذ أن إنخفاض شدة الإصابة جاء نتيجة للتداخل الإيجابي بين بكتريا *P. fluorescens* والمبيد، إن معاملة البذور بالمبيد قد وفر الخط الأول من الحماية للنبات إذ أن مبيد التوبسين يعمل على تثبيط الانقسام الخلوي مما ينتج عنه موت خلايا النسيج الفطري.

إنزيم البيروكسيداز Peroxidase

يتضح من النتائج في الجدول (6) وجود فروق معنوية بين المعاملات الملقحة ببكتريا *P. fluorescens* والمعاملة غير الملقحة في فعالية انزيم البيروكسيداز، إذ أعطت معاملة البكتريا P16 أعلى فعالية نوعية لإنزيم البيروكسيداز بلغت 8.28 (وحدة/ملغم⁻¹ بروتين)، تلتها معاملة البكتريا P14 (7.06 وحدة/ملغم⁻¹ بروتين).

جدول (6) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (P.f.16، P.f.14، P.f.12) والمعاملة بالمبيد Topsin في الفعالية النوعية لإنزيم البيروكسيداز Peroxidase (وحدة/ملغم⁻¹ بروتين) في نبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر

المرض *M.phaseolina*

تداخل T × M	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
5.60	6.72	6.26	5.53	3.91	T ₀	M ₀
5.04	6.50	5.68	5.20	2.77	T	
6.94	8.71	7.13	6.95	4.96	T ₀	M
8.65	11.20	9.19	9.19	5.04	T	
معدل تأثير M						
5.32	6.61	5.97	5.36	3.34	M ₀	تداخل P×M
7.80	9.96	8.16	8.07	5.00	M	
معدل تأثير T						
6.27	7.71	6.69	6.24	4.44	T ₀	تداخل P×T
6.85	8.85	7.44	7.19	3.90	T	
معدل تأثير P						
	8.28	7.06	6.72	4.17		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% تريا
3.39	1.82	2.28	2.30	1.34	1.40	1.56

T₀، Topsin=T = بدون مبيد ، M=الفطر الممرض ، M₀=عدم وجود الفطر الممرض P₀=عدم وجود البكتريا P16، P14، P12

=عزلات بكتريا *P. fluorescens*

أما عن تأثير الفطر فيلاحظ من النتائج وجود فرق معنوي بين معاملة الفطر والمعاملة بدون فطر، إذ أعطت معاملة الفطر أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 7.80 (وحدة/ملغم⁻¹ بروتين) في حين بلغت الفعالية النوعية للإنزيم 5.32 (وحدة/ملغم⁻¹ بروتين) في غير المعاملة بالفطر، وكذلك يبين الجدول إن تأثير المبيد كان غير معنوي إذ بلغت الفعالية النوعية للإنزيم في معاملة المبيد

6.85 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) في حين بلغت بعدم وجود المبيد 6.27 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). وأظهرت النتائج في تأثير التداخل بين الفطر والبكتريا وجود فروق معنوية إذ أعطت معاملة البكتريا P16 بوجود الفطر أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 9.96 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، تلتها معاملة البكتريا P14 بوجود الفطر والتي بلغت الفعالية النوعية للإنزيم فيها 8.16 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، ثم معاملة البكتريا P12 بوجود الفطر التي بلغت الفعالية النوعية للإنزيم فيها 8.07 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). أما عن تأثير التداخل بين المبيد والبكتريا فأوضحت نتائج الجدول (6) وجود فروق معنوية وأعطت معاملة البكتريا P16 بوجود المبيد أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 8.85 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، في حين بلغت الفعالية النوعية لمعاملة عدم وجود بكتريا ووجود مبيد 3.90 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). بالنسبة لتأثير التداخل بين الفطر والمبيد فقد أظهرت النتائج وجود فروق معنوية تفوقت فيها معاملة الفطر والمبيد إذ أعطت أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 8.65 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) تلتها معاملة الفطر بدون مبيد التي بلغت الفعالية النوعية للإنزيم فيها 6.94 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين).

أما عن حالة التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد فتبين النتائج وجود فروق معنوية وكانت أعلى فعالية نوعية للإنزيم في معاملة البكتريا P16 والمعاملة بوجود الفطر والمبيد إذ بلغت 11.20 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، تلتها المعاملتان معاملة البكتريا P14 بوجود الفطر والمبيد، معاملة البكتريا P12 بوجود الفطر والمبيد إذ أعطت كلاهما فعالية نوعية للإنزيم بلغت 9.19 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). وأعطت معاملة المبيد (بدون فطر وبكتريا) أقل فعالية نوعية للإنزيم بلغت 2.77 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين).

إنزيم الكايتيناز Chitinase

يبين الجدول (7) تأثير التفقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* الثلاث والمبيد توبسين في الفعالية النوعية للإنزيم الكايتيناز Chitinase (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) في نبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر المرض *M. phaseolina* ، ويتبين من الجدول تفوق المعاملة الملقحة بالبكتريا P16 إذ أعطت أعلى فعالية نوعية لإنزيم الكايتيناز بلغت 161.5 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، في حين أعطت المعاملة غير الملقحة أقل فعالية نوعية للإنزيم بلغت 122.5 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، أما عن تأثير الفطر فنلاحظ من الجدول تفوق معاملة الفطر معنوياً على المعاملة بدون فطر، إذ أعطت معاملة الفطر فعالية نوعية للإنزيم بلغت 156.4 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) في حين بلغت الفعالية النوعية للإنزيم في معاملة عدم وجود فطر 138.2 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). لم يكن للمبيد تأثير معنوي إذ بلغت الفعالية النوعية للإنزيم في معاملة المبيد 149.3 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، في حين كانت في المعاملة بدون مبيد 145.3 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). تشير النتائج الى وجود فروق معنوية في التداخل الثنائي بين الفطر والبكتريا وأعطت معاملة البكتريا P16 بوجود الفطر المرض أعلى فعالية نوعية لإنزيم الكايتيناز بلغت 169.5 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين)، وأقل فعالية نوعية للإنزيم كانت في معاملة عدم وجود بكتريا وفطر والتي بلغت 106.9 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين).

أظهر التداخل الثنائي بين المبيد والبكتريا تأثيراً معنوياً في الفعالية النوعية للكايتيناز، إذ ان أعلى فعالية نوعية للإنزيم كانت في معاملة البكتريا P16 بوجود المبيد والتي بلغت 169.3 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) وأقل فعالية نوعية لإنزيم الكايتيناز كانت في معاملة المبيد بدون بكتريا والتي بلغت 117.8 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). أما عن تأثير التداخل بين الفطر والمبيد فيلاحظ من النتائج تفوق معاملة الفطر بوجود المبيد إذ أعطت أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 162.2 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) في حين أعطت معاملة المبيد بدون فطر أقل فعالية نوعية للإنزيم بلغت 136.4 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). أما فيما يخص التداخل الثلاثي بين البكتريا والفطر والمبيد تشير النتائج إلى وجود فروق معنوية، إذ أعطت معاملة البكتريا P16 بوجود الفطر والمبيد أعلى فعالية نوعية للإنزيم بلغت 180.0 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين) في حين أعطت معاملة المبيد لوحده بدون فطر وبكتريا أقل فعالية نوعية للإنزيم بلغت 92.4 (وحدة/ملغم⁻¹بروتين). يلاحظ من النتائج ارتفاع الفعالية النوعية لأنزيم Chitinase ، Peroxidase في المعاملات المعاملة ببكتريا *P. fluorescens* في النباتات المصابة وغير المصابة ربما يعزى السبب الى أثر بكتريا *P. fluorescens* على حث المقاومة الجهازية للنبات. وبينت النتائج أن الفعالية الأنزيمية للنباتات المصابة المكافحة وغير المكافحة أعلى من غير المصابة ، يعزى السبب في ذلك إلى تحفيز النبات بفعل المسبب المرضي وهو رد فعل طبيعي نتيجة الإصابة بالأمراض النباتية، وكذلك حث عوامل

المقاومة الحيوية ببكتريا *P. fluorescens* (Murthy وآخرون، 2014، Manikandan و Raguchander، 2015) والذي يؤكد استحداث المقاومة في النباتات المصابة المكافحة ببكتريا *P. fluorescens* هو زيادة الفعالية الأنزيمية للنباتات السليمة والمعاملة ببكتريا *P. fluorescens* إذ كانت الفعالية الأنزيمية فيه أعلى من النباتات السليمة غير المعاملة بالبكتريا. أشارت الدراسات أن اقتران الفعالية العالية للأنزيم مع مستوى عالي من المقاومة في النبات اذ يعمل الأنزيم البيروكسيد مع بيروكسيد الهيدروجين في تكسير إنزيمات المسبب المرضي ومنها إنزيم الكيتينيز ومن ثم تنشيط عملية تحطيم الجدار الخلوي الذي يتفاعل ومع الأنزيم مع بعض بروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار الخلوي (Van Breusegem وآخرون، 2001)، كما يشارك أنزيم البيروكسيد في تحفيز إنتاج الفايثوالكسينات من خلال أكسدة الفينولات وتحويلها لمواد أكثر سمية للمسببات المرضية (Hassan وآخرون، 2007).

جدول (7) تأثير التلقيح بعزلات بكتريا *P. fluorescens* (*P.f.16*، *P.f.14*، *P.f.12*) والمعاملة بالمبيد *Topsin* في الفعالية النوعية لإنزيم الكايتينيز *Chitinase* (وحدة/ملغم⁻¹ بروتين) في نبات الذرة الصفراء تحت ظروف الإصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina*

تداخل T× M	عزلات بكتريا <i>P. fluorescens</i>				المبيد	الفطر
	P16	P14	P12	P ₀		
140.0	148.5	145.4	144.6	121.3	T ₀	M ₀
136.4	158.6	151.3	143.2	92.4	T	
150.6	158.9	157.7	152.6	133.1	T ₀	M
162.2	180.0	162.8	162.7	143.1	T	
معدل تأثير M						
138.2	153.6	148.3	143.9	106.9	M ₀	تداخل P×M
156.4	169.5	160.2	157.7	138.1	M	
معدل تأثير T						
145.3	153.7	151.5	148.6	127.2	T ₀	تداخل P×T
149.3	169.3	157.0	153.0	117.8	T	
معدل تأثير P						
	161.5	154.3	150.8	122.5		
التداخل الثلاثي	التداخل بين المبيد والفطر	التداخل بين البكتريا والمبيد	التداخل بين الفطر والبكتريا	المبيد	الفطر	LSD 5% البك تريا
41.9	15.1	37.7	36.9	12.4	10.2	36.2

Topsin=T، T₀= بدون مبيد ، M=الفطر الممرض ، M₀=عدم وجود الفطر الممرض P₀=عدم وجود البكتريا P16، P14، P12 =عزلات بكتريا *P. fluorescens*

تتكون جدران الفطريات منها الفطر *M.phaseolina* من تركيب معقد من الكايتين (Chitin) وهو بوليمر مؤلف من وحدات مكررة من سكر N-acetyl glucoseamin وتعد الأنزيمات المحللة لجدران الفطريات عوامل سيطرة حيوية مهمة إذ تقوم أنزيمات الكايتينيز (*Chitinase*) بتكسير الكايتين الداخل في تركيب معقد جدران الفطريات (Adams، 2004). يمكن تفسير قابلية تثبيط الفطر الممرض من جراء المعاملة بالبكتريا *P. fluorescens* بإمكانية إفرازها للأنزيمات المحللة للجدران الخلوية، فضلا عن حث إنتاج الإنزيمات من قبل العائل نفسه لإضعاف الممرض. تتفق هذه النتائج مع اللشي ومحمود (2014) الذي وجد ان أعلى نشاط لإنزيم Peroxidase كان في معاملة التربة بالفطر *Macrophomina phaseolina* وزراعة البذور في التربة المعاملة بالمقاوم الاحيائي *P. fluorescens* اما أقل نشاط للإنزيم فقد كان في معاملة التربة المعقمة فقط، وكذلك حفزت *P. fluorescens*

المقاومة الجهازية لنبات فول الصويا ضد الفطر *M.phaseolina* وذلك من خلال زيادة الفعالية الانزيمية لإنزيمات Chitinase ، Peroxidase ، B-1,3glucanase للنباتات المصابة المعاملة بالبكتريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة (Attia وآخرون، 2011).
المصادر:

- اللشي، نجوى بشير وعبير احمد محمود (2014). المقاومة الحيوية لموت بادرات نبات الباميا بأستخدام المبيدين الاحيائين *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis*. مجلة علوم الرافدين، المجلد 25، العدد 1 ، ص 23-39.
- المحمدي، شاكر مصلح وفاضل مصلح المحمدي(2012). الاحصاء وتصميم التجارب. دار اسامة للنشر والتوزيع. عمان. الاردن.
- الهاشمي، محمد نديم قاسم (2011). التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* على محصول البطيخ *Cucumis melo L.* رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- Adams, D.J. 2004. Fungal cell wall chitinases and glucanases. Nature Reviews Microbiology 150:2029–2035.
- Attia, M., Nemat, M, A., Azza, S, T., and Hoda, A, H.2011. Induction of defense responses in soybean plants against *macrophomina phaseolina* by some strains of plant growth promoting rhizobacteria. Journal of Applied Sciences Research. Vol. 7, No. 11, PP. 1507-1517.
- Bakker, P.A. H., Weisbeek, P.J., and Schippers, B. 1986. The role of siderophores in plant growth stimulation by *Fluorescent Pseudomonas*. Med. Fac. Land. Bouww Rijks Univ. Gent.51/3b (Abstract).
- Clark, F.E.1965. Agar - Plate method for total microbial count. Publisher Madison, Wisconsin, U. S. A. 15775PP.
- Dewan, M., and Sivasithanparam, K.1989. Occurrence of species of *Aspergillus* and *Penicillium* in root of wheat, rye grass and their effect on root var. tritic. *Gaeumannomyces graminis* rot caused by Australiang. Bot. 36: 701-710.
- Dwiredi, D., and Johri, B.N.2003. Antifungal from fluorescent pseudomonas . Biosynthesis and regulation. Cur. Sci: 85: 1693-1703.
- Hammerschmidt, R., Nuckles, E. M., and Kuc, J.1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology* 20: 73–82.
- Hassan Maggie, E.M., Abd El-Rahman Saieda, S., El-Abbasi, I.H., and Mikhail, M.S.2007. Changes in peroxidase activity due to induced resistance against faba bean chocolate spot disease. Egypt J. Phytopathol., 35:35-48.
- Henri, F., Laurette, N.N., Annette, D., John, Q., Wolfgang, M., François-Xavier, E., and Dieudonné, N.2008. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. African Journal of Microbiology Research 2, 171-178.
- Khan, K.S., and Joergensen, R.G.2009. changes in microbial biomass and P.fractions in biogenic household waste compost amended with inorganic P.fertilizers .Bioresour.Technol.100: 303-309.
- King, E.O., Ward, M.K. and Rangey, D.E.1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Medicine, 44: 301-307.
- Locke, J.C., Marois, J.J., and Papavizas , G.C.1985. Biological control of *fusarium* with of greenhouse-grown chrysanthemums. Plant Disease, 69: 167-169.
- Lucas, Y. 2001. The role of plant in controlling rates and products of weathering: Importance of Biological Pumping. Annu. Rev. Earth Plant. Sci. 29:135-63.
- Manikandan, R., and Raguchander, T.2015. *Pseudomonas fluorescens* (Pf1) mediated chitinolytic activity in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. African Journal of Microbiology Research. Vol. 9(19), pp. 1331-1337.
- Maurhofer, M., Hase, C., Menwly, P., Metraux, J.P., and Defago, G.1994. Induction of systemic resistance of tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescence* strain

- CHAO: influence of the gac A gen and the pyoverdine production. *Phytopathology* 84:139-146.
- Mckinney, H.H.1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Heminthosporum sativum*. *J. Agric. Research* 26: 195-217.
- Merca, T. and Balabaskar. 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas fluorescens* from rice fields. *International Journal of food. Department of plant pathology. India.* 2(1):113-120.
- Murthy, K.N., Uzma, F., Chitrashree, A., and Srinivas, C.2014. Induction of Systemic Resistance in Tomato against *Ralstonia solanacearum* by *Pseudomonas fluorescens*. *American Journal of Plant Sciences.* 5, 1799-1811.
- Nelson, L.M.2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants. *Plant Management Network*, online doi:10.1049/CM-2004-0301-05-RV.
- Schinder-Keel, U.C., Blumer, C., Troxer, J., Defago, G. and Hass, D.1995. Amplification of the housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescence* CHAO enhances antibiotic production and improve biocontrol abilities. *J. Bacteriol* 177:5387-5392.
- Shehata, S. A., Yasser, M, Ahmed, Youssef T, Emam and Mahmoud A, Azoz. 2012 . Influence of some organic and inorganic fertilizers on vegetative growth, yield and yield components of cucumber plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 8(2): 108-114.
- Sigler, W.V., and Turco, R. F.2002. The impact of Chlorothalonil application on soil bacterial and fungal populations as assessed by denaturing gradient gel electrophoresis, *Applied soil Ecology* 21 : 107-108.
- Tweddell, R.J., Jabaji-Hare, S.H., and Charest, P.M.1994. Production of chitinase and B1-3, glucanase by *Stachybotrys eleyans*, a mycoparasite of *Rhizoctonia solani*. *Appl Environ. Microbiol*, 60:489-495.
- Validov, S., Mavrodi, O., Dela Fuente, L., Boronin, A., Weller, D., Thomashow, L. and Mavrodi, D.2005. Antagonistic activity among 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. *FEMS Microbiol Lett* 242, 249–256.
- Van Breusegem, F., Varnova, E.L., Dat, F., and Inze, D.2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci*, 161 : 405-414.