تقيم كفاءة عامل المقاومة الاحيائية *Azotobacter chroococcum* في مكافحة الفطر *Rhizoctonia solani* مسبب مرض تعفن جذور الباذنجان (*Solanum melongena* L.) تحت ظروف الظلة الخشبية

علي حسين عبدالله ' عبدعلي عبيد عبيس

الكلية التقنية المسيب – قسم تقنيات المقاومة الأحيائية

Abidali@yahoo.com Alihussen50@yahoo.com

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن الجذور على الباذنجان في بعض مناطق محافظة بابل واختبار المقدرة التضادية لعامل المكافحة الأحيائية ضد الفطر *R. solani* تحت ظروف الظلة الخشبية. بينت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *R. solani* في معظم العينات وبنسبة تكرار تراوحت بين ٢٢,٥- ٤٧,٠% و شخص الى مستوى الجنس والنوع أعتماداً على صفاته المزرعية والمظهرية. بينت نتائج الاختبار الأولية للمقدرة الأمراضية لعزلات الفطر *R.solani* أختلاف العزلات بمقدرتها الأمراضية بتأثيرها على نسبة انبات بذور اللهانة ، اذ منعت العزلات,RS-7, RS-4, RS-2, RS-1 أنبات البذور بالكامل ، في حين كانت نسبة الإنبات في معاملة المقارنة ٩٨,٦٦ %, كما أوضحت النتائج تأثير عزلات الفطر الممرض على شدة الاصابة بنباتات الباذنجان حيث تراوحت مابين ٤٦,٦٠-٨٦,٦٠ مقارنة بمعاملة المقارنة بدون فطر ممرض التي كانت صفر% . و أوضحت النتائج الحصول على أربع عزلات من البكتريا المثبتة للنيتروجين *Azotobacter chroococcum* . كما اشارت النتائج ايضاً ان عزلات البكتريا *A. chroococcum* سببت خفضا معنويا في معدل نمو الفطر *R.solani* بنسبة تثبيط تراوحت بين 50.7-69.3%. كما ساهمت بكتيريا *A. chroococcum* في تقليل الاصابة بالفطر الممرض*R.solani* إلى مستويات منخفضة قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده التي بلغت نسبة الاصابة ١٠٠% وبشدة إصابة ٨٦,٦٦%. كما أدت المعاملة بالبكتريا الى رفع معنوي لمعايير نمو النبات مقارنةً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده.

الكلمات المفتاحية : *Azotobacter chroococcum* , *Rhizoctonia solani* ,eggplant

Abstract

This study was conducted to isolate and identify the causal agent of root rot disease on eggplant in Babylon governorate, and to examine antagonistic ability of some biocontrol agents against the fungus. The results of isolation and identification showed that *Rhizoctonia solani* was present in these samples in a frequency of 22.5-47%., the fungus was identified up to the species level based on its cultural and morphological characteristics. A preliminary test of pathogenicity for *R. solani* isolates showed that the isolates were different in their effect on cabbage seed germination. The isolates RS-1، RS-2، RS-4,RS-7-1 prevented seeds germination completely, compared with control (٩٨,٦٦ %). Results also showed that pathogenic isolates affected in incidence on eggplant , which ranged between ٨٦,٦٠-٤٦,٦٠% compared to 0% in control treatment (without pathogen). Four isolates of *Azotobacter chroococcum* were isolated. *A. chroococcum* caused significant inhibition in growth (50.7-69.3%) of *R. solani.*

key words :*Azotobacter chroococcum* , *Rhizoctonia solani* ,eggplant

المقدمة

يعد الباذنجان Eggplant (*Solanium melongena* L.) أحد محاصيل الخضر الواسعة الانتشار في كثير من بقاع العالم خصوصاً في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية, موطنه الاصلي الهند ووسط وجنوب الصين (خليل, ٢٠٠٤). يصاب محصول الباذنجان في الزراعات المكشوفة والمحمية بعديد من الامراض والافات التي تسبب له اضرار بالغة , اثناء فصل النمو ومن تلك الامراض هو مرض تعفن الجذور الرايزكتوني والذي يعد من اهم الامراض الشائعة في المشاتل والبيوت المحمية والذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* وهو واسع الانتشار في جميع انحاء العالم (جرجيس واخرون ,١٩٩٣) يعد مرض تعفن الجذور الرايزوكتوني من أكثر أمراض التربة أهمية وانتشاراً ويرتبط مقدار الفقد الناشئ عن الإصابة بهذا المرض بدرجة كبيرة بكثافة لقاح الفطر الممرض المتوفرة في التربة وموسم الزراعة وتواجد العوامل الحيوية. التفتت الانظار في الآونة الخيرة الى المكافحة الاحيائية من قبل الباحثين في

امراض النبات لمكافحة النبات من المسببات الممرضة , حيث عرف التأثير الكبير والفعال لبعض عوامل المكافحة الاحيائية سواء كانت فطريات او بكتريا ومن هذه العوامل هي البكتريا *Azotobacter chroococcum* وتاثيرها ضد العديد من المسببات المرضية. إن إنتاج المضادات الحيوية من هذه البكتريا يعد من الاليات الأكثر قبولاً في السيطرة على المسببات المرضية إضافة لإنتاجها عدداً من الأنزيمات والمركبات الأخرى المثبطة للفطريات ومنافسة الممرضات (Agrawal واخرون ,٢٠٠٢ و،Fatima واخرون ٢٠٠٩ وGeorgi واخرون ١٩٤٠ وMurcia ,١٩٩٧), نظراً لأهمية مرض تعفن جذور الباذنجان واهمية عوامل المكافحة الاحيائية لمقاومة الممرضات هدفت الدراسة الى عزل الفطر المسبب لمرض تعفن جذور نبات الباذنجان وتشخيصه واختبار مقدرته الامراضية , ومكافحته احيائياً باستخدام عامل المكافحة الاحيائية البكتريا *Azotobacter chroococcum*.

المواد وطرائق العمل

١- المسح الحقلي وجمع العينات

جمعت نباتات ظهرت عليها أعراض الإصابة بالمرض من بعض حقول محافظة بابل للموسم الزراعي ٢٠١١-٢٠١٢ ، وقد تراوحت مساحة الحقول بين ١-٥ دونم جدول (١) وذلك بقلع النباتات باحتراس ووضعها في اكياس بولي اثلين مع تسجيل مكان وتاريخ جمع العينة ونوع الزراعة والمساحة وموعد الزراعة وغيرها.

٢- العزل والتشخيص

أخذت أجزاء من الجذور التي ظهرت عليها أعراض التعفن والتقرحات وغسلت بالماء الجاري لمدة ٣٠ دقيقة وقطعت إلى أجزاء صغيرة بطول ٠,٥ سم وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (٠,٥%) لمدة ٣ دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة ٢ دقيقة ونشفت بورق الترشيح المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرع اربعة قطع نباتية في كل طبق بتري قطر ٩ سم حاوٍ على الوسط الزرعي اكر السكروز والبطاطا Potato Sucrose Agar (PSA) (٢٠٠ غم بطاطا ،١٠ غم سكروز،٢٠غم اكر،١ لتر ماء مقطر) المضاف إلية المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز ٢٠٠ ملغم / لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (١٢١ م^{o} وضغط ١,٥ كغم/سم٢) لمدة ١٥ دقيقة ، حضنت الأطباق في 25±1 م^{o} لمدة ٣ أيام وبعدها جرى الفحص للتحري عن وجود المسبب المرضي وإحصاءه وتنقيته بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوٍ على الوسط الزرعي PSA. حضنت الأطباق لمدة ٤ أيام وبعدها حفظت العزلات في انابيب اختبار حاوية على تربة معقمة او بذور دخن محلية معقمة.

٣- تشخيص الفطر *Rhizoctonia solani*

شخص الفطر *R.solani* بعد ظهور النموات الفطرية كمسبب لمرض تعفن جذور الباذنجان اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وباستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Parmeter و Whitney , ١٩٧٠ و Alexopoulos واخرون , ١٩٩٦) .

٤- اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *Rhizoctonia solani*

جرى اختبار المقدرة الامراضية لسبع عزلات من الفطر*R.solani* حسب طريقة Bolkan و Butler (١٩٧٤). حيث حضرت أطباق بتري قطرها 9 سم تحوي على الوسط الزرعي الاكر والماء (20غم اكر ، 1 لتر ماء مقطر) والمعقم بجهاز المؤصدة لمدة 15 دقيقة والمضاف له المضاد الحيوي Tetracycline. وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من مزارع الفطر*R.solani* المنمى على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 أيام كل على انفراد. حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 م^{o} لمدة 3 ثلاثة أيام, بعدها

زرعت بذور لهانة محلية معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (كما مذكور سابقا) وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل ٢٥ بذرة / طبق. استعملت 3 أطباق لكل عزلة إضافة لمعاملة المقارنة بدون الفطر. وضعت الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25±1 م° ثم سجلت نسبة الإنبات بعد 7 أيام.

٥- عزل البكتريا *Azotobacter*

عزلت البكتريا *Azotobacter* بتحضير تخافيف لعينات التربة التي جمعت من منطقة حول الجذور لنباتات حنطة , قطن , شعير و باذنجان من محافظة بابل وذلك بإضافة ١٠ غم من عينات التربة المختارة الى ٩٠ مل من الماء المقطر المعقم في دوارق سعة٢٥٠ مل ومزجت جيدا و اجريت تخافيف متسلسلة والى حد 10^{-6} وذلك بنقل ١ مل من عالق التربة الى انابيب اختبار تحتوي ٩ مل من الماء المقطر المعقم لكل عينة من عينات التربة واستعمل وسط Sucrose Mineral Salts(SMS) تلقيح تخافيف التربة (Hillel, ٢٠٠٥)، حيث اخذ ١ مل من تخافيف التربة المحضرة اعلاه لتلقيح انابيب اختبار تحتوي على٩ مل من الوسط SMS والذي حضر وعقم بجهاز المؤصدة لمدة١٥ دقيقة (١٢١ م وضغط ١,٥ كغم/سم٢) وبواقع ٣ انبوب لكل تخفيف , ثم حضنت الانابيب تحت درجة حرارة ٢٨ م ولمدة ٢-٣ ايام وفحصت الانابيب بملاحظة الغشاء البني المتكون على السطح والذي يعد مؤشرا لنمو بكتريا الازوتوباكتر. ثم اخذ لقاح (بواسطة الابرة ذات العقدة معقمة) من الأنابيب التي اعطت مؤشرا للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الصلب Sucrose Mineral Salts Agar وحضنت الاطباق على درجة حرارة ٢٨±1 م° ولمدة٢-٣ ايام , ثم اعيد التخطيط لثلاث مرات متتالية وذلك لغرض الحصول على مستعمرات نقية من البكتريا وتم تنشيط العزلات باستعمال وسط التنشيط (Thompson و Skerman، ١٩٧٩)

٦- تشخيص بكتريا *Azotobacter chroococcum*

شخصت الكتيريا اعتماداً على الصفات المزرعية على الوسط SMS الصلب وكذلك خصائصها المجهرية بعد تصبيغها بصبغة كرام واختبار الحركة و إجراء اختبارات كيموحيوية كالنمو في ١% كلوريد الصوديوم و النمو في درجة حرارة ٣٧ م واختبار النمو في وسط بيرك (Burk"s media) و اختبار استهلاك المصادر الكاربونية المختلفة (كلوكوز، مانيتول , راميزوز،سكروز، نشأ) و مقدرة العزلات على تثبيت النتروجين الجوي.

٧- تأثير بعض عزلات البكتريا *Azotobacter chroococcum*. في نمو الفطر*Rhizoctonia solani* في الوسط الزرعي PSA.

اختبرت القابلية التضادية للبكتريا المثبتة للنيتروجين *A .chroococcum* ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي**PSA** عن طريق، اضافة ١ مل من عالق كل عزلة من العزلات البكتيرية (A1(حنطة)، A2(قطن)، A3(شعير)، A4(باذنجان)) المنماه على وسط التنشيط السائل عمر ٥ أيام بالقرب من حافة طبق بتري حاو على الوسط الزرعي PSA .وضع قرص قطر ٠,٥ سم من مزرعة الفطر الممرض عمر ٧ ايام بالقرب من حافة الجانب الاخر، استعملت ٤ اطباق للمعاملة وتركت ٤ أطباق من دون إضافة البكتريا كمقارنة.حضنت الأطباق (25±1 م° لمدة ٧ أيام) (Fatima وزملاؤه،٢٠٠٩). حسب معدل نمو الفطر الممرض والنسبة المئوية للتثبيط وفقا للمعادلة الاتية:

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = ١ - \left[\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}} \right] \times ١٠٠$$

8- تأثير بعض عزلات الفطر *R. solani* في نباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية

نفذت هذه التجربة في ظروف الضلة الخشبية ، اذ انتخبت 4 عزلات ممرضة من الفطر *R.solani* (Rs7, Rs4, Rs2, Rs1) وأضيف لقاح الفطر المحمل على بذور الدخن المحلي بنسبة١%(وزن/وزن) الى ترب مزيجية معقمة بالفورمالين التجاري (٤٠%) وذلك بتحضير محلول مكون من ٢ :١٠٠ لتر فورمالين /ماء وبعد تجهيز التربة يرش المحلول على سطح التربة بمعدل ١٠٠لتر لكل ١م^2 ثم تغطى لمدة ٣-٤ يوم تحت اشعة الشمس لتوفير الحرارة اللازمة للتعقيم (طواجن , ١٩٧٥) والموزعة في اصص بلاستيكية قطر ١٢,٥ سم تحتوي ١ كغم تربة / اصيص زرعت الاصص بمعدل نبات باذنجان واحد. وضعت الأصص حسب التصميم تام التعشية وبثلاث مكررات لكل معاملة بضمنها معاملة المقارنة بدون إضافة الفطر الممرض. وبعد ذلك سقيت الاصص وخضعت للمتابعة وبعد مرور ٤٥ يوم ولحين ظهور أعراض المرض تم قلع الشتلات و قدرت نسبة و شدة الاصابة للمجموع الجذري بالفطر *R.solani* وفقاً للدليل المرضي المكون من ٥ درجات وعلى مایاتي: ٠= جذور سليمة. ١= تعفن الجذور الثانوية . ٢= تعفن الجذور الثانوية وجزء من الجذر الرئيس. ٣= تعفن الجذر الرئيس دون تعفن قاعدة الساق. ٤= تعفن الجذر الرئيس وتهرؤه وتعفن قاعدة الساق. ٥= موت النبات. وقد حسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة (Mckinney, 1923) وعلى ما يأتي:

$$\%\ \text{لشدة الاصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في درجة ٠×٠})+ (\text{عدد النباتات في درجة ١×١}).... +(\text{عدد النباتات في درجة ٥×٥})}{\text{مجموع النباتات المفحوصة ×٥}} \times ١٠٠$$

٩- تأثير بكتريا *Azotobacter chroococcum* في تثبيط نمو الفطر *R.solani* تحت ظروف الظلة الخشبية

نفذت هذه التجربة باستعمل التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات لكل معاملة, عقمت تربة مزيجية بالفورمالين التجاري بتركيز ٤٠% وتركت لمدة ٢٠ يوماً قبل الاستعمال, بعدها وزعت في أصص بلاستيكية قطر ٢٠ سم وبمعدل ٢,٥ كغم/أصيص. تمت إضافة معاملات التجربة التي شملت مايأتي:

١- الفطر *R. solani* (RS-2) بمفرده.

٢- RS + البكتريا *A. chroococcum* (A3).

٣ – البكتريا *A. Chroococcum* (A3)بمفردها .

٤ - المقارنة بدون الفطر الممرض او البكتريا.

أضيف عالق البكتريا (A3) *A. chroococcum* الى التربة بمعدل ١٠ مل/أصيص (٥,٦ ×١٠^7 وحدة تكوين مستعمرة Cfu/مل) بعد زراعة الشتلات بعمر ٣٥ يوما مباشرة , بينما أضيف لقاح الفطر الممرض محملاً على بذور الدخن المحلي بعد أسبوع من الزراعة بنسبة ١% (وزن/وزن), زرعت الأصص بشتلات الباذنجان (غير معاملة بالمبيدات الفطرية) صنف برشلونة، بواقع نبات / اصيص، وتمت متابعة التجربة وسقيها كلما دعت الحاجة. أخذت النتائج بعد مرور ٧٠ يوماً من الزراعة بحساب نسبة إصابة المجموع الجذري وشدته بمرض تعفن جذور الباذنجان وكما متبع في التجربة ٨, وجرى قياس الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري والخضري وارتفاع النبات وطول المجموع الجذري ووزن الثمار وعدد الاوراق في كل نبات.

النتائـــج والمـــناقشة

العزل والتشخيص

أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *R.solani* في معظم العينات (جدول ١) وقد حقق نسب تكرار كانت بمعدل ٣٠,٧% وكان أعلى تكرار في عينة منطقة البدع الكبير وربما ذلك يعود الى ان هذه المنطقة تزرع الباذنجان سنوياً وان الفطر *Rhizoctonia solani* من الفطريات المستوطنة بالتربة و تزداد كمية اللقاح الفطري سنويا بتكرار زراعة العائل او العوائل البديلة كما ان للفطر القدرة على تكوين اجسام حجرية تمكن الفطر من البقاء لفترات طويلة في التربة وهذه النتائج تتفق مع ماتوصل الية (جبر واخرون , ٢٠٠٢ و حسن , ٢٠٠٢). ان مرض التعفن الرايزكتوني يعد من الأمراض الرئيسة المهددة لزراعة الباذنجان في العالم.

الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *R.solani* باستعمال بذور اللهانة

اوضحت النتائج (جدول 2) أن جميع عزلات الفطر*R.solani* سببت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لإنبات بذور اللهانة ولوحظ أن هناك تبايناً في المقدرة الامراضية لعزلات الفطر التي حصل عليها في هذه الدراسة ، حيث مـــنعت العـــــزلات ,RS-1 , RS-2 ,RS-4 انبات البذور بالكامل قياســـــاً بـــمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها ٩٨,٦٦%.في حين تراوحت نسب الانبات في معاملات العزلات الاخرى بين 20.00-٨٤.00%

جدول رقم .١ المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الباذنجان لبعض حقول محافظة بابل للموسم الزراعي ٢٠١١-٢٠١٢ و نسبة تكرار عزلات الفطر *R.solani* في العينات

رقم العينة	المنطقة	مساحةالحقل(دونم)	تكرار عـــــزلات الـــفطر *R.solani* في العينات(%)
١	النيل	٢	٢٣,٥
٢	الوردية	١,٥	٣٠,٠
٣	ابو غرق	٤	٢٣,٩
٤	جبلة	٢	٢٧,٠
٥	مشروع المسيب	١	٤١,٦
٦	المحاويل	٥	٢٢,٥
٧	البدع الكبير	٢	٤٧,٠

جدول ٢. الكشف عن عزلات الفطر *R.solani* الممرضة بأستعمال بذور اللهانـــة

العزلة*	للإنبات (%)
RS-1	0.0
RS-2	0.0
RS-3	٨٤,٠
RS-4	0.0
RS-5	70.66
RS-6	٢٠,٠٠
RS-7	٠,٠٠
Cont	٩٨,٦٦
LSD	١٠,٣٩

*RS = *Rhizoctonia solani* ، العدد بجانب الرمز يمثل رقم العزلة

عزل وتشخيص بكتريا *Azotobacter*

يوضح (الجدول ٣). عزل ٤ عزلات من بكتريا *Azotobacter* عزلت من تربة حول الجذور لنباتات الحنطة و القطن والشعير والباذنجان. وبينت النتائج ان المستعمرات النامية على الوسط SMSA الصلب كانت لماعة، ناعمة، محدبة، لزجة، متوسطة الى كبيرة الحجم غير شفافة، كما ان الصبغة البنية كانت واضحة بمرور الوقت. و أوضحت نتائج الفحص المجهري للشرائح الزجاجية الحاوية على الغشاء البكتيري المثبت المصبغ بصبغة كرام أن أشكال الخلايا البكتيرية كانت عصوية قصيرة، كبيرة الحجم، سالبة لصبغة كرام. غالباً ما تكون بهيئة أزواج وهذه الصفات تتطابق مع الصفات المزرعية والمجهرية للجنس *Azotobacter* (Bergey's manual، ٢٠٠٤). ويلاحظ من الجدول ٥ بعض الصفات الكيموحيوية المستعملة للتفريق بين الأنواع التابعة للجنس *Azotobacter* (Holt وزملاؤه، ١٩٩٤ و Shankarappa و Madhav Rao، ١٩٩٨). ان أعداد البكتيريا في ١ مل معلق بكتيري بعمر ٣ أيام كانت 5.6×10^7 وحدة تكوين مستعمرة cfu. وأثبتت العزلات كفاءتها في تثبيت النتروجين الجوي و لها القدرة على استغلال المصادر الكربونية المختلفة (المانيتول، الكلوكوز، السكروز، النشأ والرامينوز) والوسط الحاوي على١% كلوريد الصوديوم وعدم قدرتها على النمو في وسط بيرك، كما نمت العزلات في حرارة ٣٧ م^{o} وبينت نتائج اختبار الحركة ان البكتيريا متحركة حركة انتقالية حقيقية نشطة. ويتضح من النتائج ان جميع العزلات كانت تابعة للنوع *A. chroococcum* وتتفق هذه النتائج مع ما اشار اليه Khider و Khidher (٢٠١١) من ان النوع *A. chroococcum* من أكثر الأنواع التابعة للجنس *Azotobacter* انتشاراً في الترب العراقية، وذكر Mahdi وآخرون (٢٠١٠). أن النوع *A. chroococcum* هو الاكثر شيوعاً في الترب الزراعية. ان بكتريا *A. chroococcum* حرة المعيشة، هوائية إجبارية، متباينة التغذية (Georgi و Ettinger، ١٩٤٠). وتوجد في معظم أنواع الترب وتزداد أعدادها في المناطق حول الجذور بسبب استفادتها من افرازات الجذور وانسلاخاتها وعادة يلائمها pH المتعادل أو المائل للقاعدية ودرجة الحرارة ٣٠ م^{o} (Dey، ١٩٧٣ و Dobereiner، ١٩٧٤) .

اختبار الفعالية التضادية لبكتيريا *Azotobacter chroococcum* ضد الفطر الممرض *R.solani* على الوسط PSA

أدى استعمال بكتريا *A. chroococcum* كعامل مكافحة أحيائي إلى تثبيط نمو الفطر الممرض *R.solani* (RS-2) في الوسط الزرعي PSA (جدول 5). وقد تباينت نسب التثبيط باختلاف عزلات البكتيريا اذ سببت العزلة A3 خفض في معدل نمو الفطر بلغ ٢,٧١ سم ونسبة تثبيط ٦٩,٣% و التي اختلفت معنوياً عن التأثير الذي أحدثته كل من العزلتين A1 وA2. بينما حققت العزلة A4 اقل نسبة تثبيط بالنسبة لبقية العزلات بلغت٥٠,٧ % مقارنة بمعاملة المقارنة التي كانت فيها نسبة التثبيط صفر %. كما أوضحت التجارب أيضا سهولة نمو *A. chroococcum* على وسط PSA الخاص بالفطريات وذلك لأن الوسط غني بالمواد الكاربوهيدراتية ولاسيما السكروز الذي يعد أيضا مكوناً أساسياً للوسط التخصصي SMS. وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Fatima واخرون (٢٠٠٩). وMali و Bodhankar (٢٠٠٩) ومطلوب (٢٠١٢). التي اوضحت فعالية عزلات *A. chroococcum* ضد مجموعة من الفطريات الممرضة وتثبيط نموها تحت الظروف المختبرية. ان التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتيريا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة للنبات قد يعود الى مقدرة البكتيريا على انتاج مواد ايضية ومركبات عضوية و اندول حامض الخليك وبعض الانزيمات والمضادات الحيوية فضلاً عن انتاج سيانيد الهيدروجين ومواد اخرى و منافستها

للممرضات على المكان والمواد الغذائية(Pridachina وزملاؤه، ١٩٨٢ و Hillel، ٢٠٠٥).

جدول ٣ . بعض الصفات المزرعية والمجهرية المشخصة لبكتيريا *Azotobacter chroococcum*

رقم العزلة	اعداد البكتريا Cfu /مل ×١٠^{٧}	كمية N المثبتة%	استهلاك مصادر الكاربون المختلفة					النمو في ١% NaCl	وسط بيرك	٣٧مْ
			مانيتول	كلوكوز	سكروز	نشأ	رامينوز			
A1	٢,٦	0.12	**++**	+	++	+	-	**+**	**-**	**++**
A2	٣,٧	0.06	**++**	+	++	+	-	**++**	**-**	**+**
A3	٥,٦	0.16	**+++**	++	++	+	-	**+++**	**-**	**++**
A4	٢	0.05	+	+	++	+	+	**+**	**-**	**+**

- لايوجد نمو +نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو كثيف

A= *Azotobacter chroococcum*، العدد بجانب الرمز يمثل رقم العينة.

جدول ٤. الصفات الكيموحيوية والتفريقية لتشخيص بكتريا *Azotobacter chroococcum*

العزلة	منطقة الجمع/ النبات	الصفات المزرعية للمستعمرات			الصفات المجهريـــة للخـلايا		
		كثافة النمو	شكل النمو	لون المستعمرة	شكل الخلايا	تجمع الخلايا	صبغة جرام
A1	بابل/ حنطة	++	لزجة	بنية غامقة	عصوية قصيرة	ثنائية	G^{-ve}
A2	بابل/ قطن	++	لزجة	بنية فاتحة	عصوية قصيرة	ثنائية	G^{-ve}
A3	بابل/ شعير	+++	لزجة جدا	بنية غامقة	عصوية قصيرة	ثنائية	G^{-ve}
A4	بابل/ باذنجان	++	لزجة جدا	بنية فاتحة	عصوية قصيرة	ثنائية	G^{-ve}

- لايوجد نمو +نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو كثيف

A= *Azotobacter chroococcum*، العدد بجانب الرمز يمثل رقم العينة.

جدول ٥. تأثير بكتريا *Azotobacter chroococcum* في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الوسط الزرعيPSA.

المعاملة	قطر المستعمرة (سم)*	التثبيط (%)
فطر R.S2 + بكتريا (A1)	3.56	59.6
فطر R.S2 + بكتريا (A2)	3.87	56.1
فطر R.S2 + بكتريا (A3)	2.71	69.3
فطر R.S2 + بكتريا (A4)	4.35	50.7
فطر R.S2 بمفرده (مقارنة)	8.81	0.00
LSD (٠,٠٥)	٠,٩٨	

* كل رقم يمثل معدل اربعة مكرراتRS = *R.solani* ، A = *Azotobacter*

تاثير بعض عزلات الفطر *R.solani* في نباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية

تشير النتائج (جدول 6) ان جميع العزلات المختبرة من الفطر *R. solani* قد احدثت رفع معنوي في شدة الاصابة وكانت الاصابة واضحة في نباتات الباذنجان اذ تفوقت العزلات RS-2 وRS-1 وRS7 وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (حسن , ٢٠٠٢) من ان الفطر*R.solani* هو مسبب مرض التعفن الرايزكتوني على الباذنجان ويسبب تعفناً للبذور وموت للبادرات. ويحدث تعفن جذور وتقرح وتخصر قواعد سيقان البادرات بالقرب من سطح التربة مما يسبب سقوط البادرات وموتها، ووجد من نتائج أعادة عزل المسبب المرضي من الجذور المصابة بالعزلة RS2 في هذه التجربة ان الصفات المظهرية لها مطابقة لصفات الفطر *R.solani* والعزلة التي تمت أضافتها للتربة وهذا يؤكد انه مسبب مرض التعفن الرايزكتوني على جذور الباذنجان و هو الفطر*R.solani* .

جدول ٦. تاثير بعض عزلات الفطر *R.solani* في نباتات الباذنجان تحت ظروف الضلة الخشبية

العزلة*	شدة الاصابة %	نسبة الاصابة%
RS-1	٦٦,٦٠	٧٣,٣٣
RS-2	٨٦,٦٠	١٠٠
RS-4	٦٦,٦٠	٦٦,٦٦
RS-7	٤٦,٦٠	٦٠
المقارنة	٠,٠٠	٠,٠
LSD(p=0.05)	٢٣,٣	١٩,٢

*RS= *R.solani* ، العدد بجانب الرمز يمثل رقم العزلة

* كل رقم يمثل معدل لثلاثة نباتات

تأثير بكتريا *Azotobacter chroococcum* في تثبيط نمو الفطر *R.solani* تحت ظروف الظلة الخشبية

أدى استخدام *A. chroococcum* في التجربة الى خفض النسبة المئوية للإصابة بالفطر *R.solani* وشدتها(جدول ٧). اذ اســـــتطاعت البكتيريا خفض الإصابة بالفطر الممرض الى نسبة ٦٦,٦٧% مقارنة بنسبة الاصابة في معاملة المقارنة التي كانت ١٠٠,٠٠%, وأحدثت خفضاً معنوياً في شدة الإصابة كانت ٢٦,٦٦% بوجود الفطر الممرض.مقارنة بمعاملة الفطر الممرض التي كانت شدة الاصابة فيها ٨٦,٦٦ وبينت النتائج (جدول ٧) ان معاملة البكتريا المستعملة بهدف مكافحة مسبب مرض تعفن جذور الباذنجان حققت زيادة معنوية في مؤشرات النمو ممثلة في الوزن الطري والجاف لكل من المجموع الخضري والجذري للنباتات المعاملة قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده التي ادت الى خفض معنوي للوزن الطري الخضري الى ١٠,٤٣ غم وخفض في الوزن الطري الجذري الذي كان ٦,٧٠ غم وكذلك خفض في الوزن الجاف للمجموع الخضري إذ كان ٤,٩٣ غم وكذلك الوزن الجاف للمجموع الجذري ٤,١٠ غم , حيث حققت معاملة البكتريا *A. chroococcum* مع الفطر الممرض زيادة معنوية في الوزن الطري الخضري والذي بلغ 46.30 غم وللمجموع الجذري 32.46غم اما الوزن الجاف فقد حققت 15.33غم للمجموع الخضري و12.13غم للمجموع الجذري , بينما حققت معاملة البكتريا *A. chroococcum* بمفردها زيادة معنوية في الوزن الطري لكل من المجموع الخضري والجذري قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت ٦٤,٧3 و ٥١,١٠غم على التوالي و الوزن الجاف ٢٥,٥٠ و ١٨,٦٦ غم , كما حققت معاملتي البكتريا والفطر الممرض والبكتريا *A. chroococcum* بمفردها زيادة معنوية ملحوظة في اطوال النباتات ووزن الثمار مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده , تأتي بكتيريا *A. chroococcum* فـــــي مــقدمة الأنواع البكتيرية المحفزة لنمو النبات PGPR إذ تقوم بتثبيت النتروجين الجوي بصورة غير تكافلية وتزيد من جاهزية العناصر الغذائية وفي مقدمتها عنصر الحديد من خلال انتاجها Siderophore (Murcia وزملاؤه، ١٩٩٧), كما ان لها القدرة على إنتاج الهرمونات النباتية ومنها IAA والجبريلينات والسايتوكاينينات والاوكسينات التي لها أهمية كبيرة في تنظيم نمو النبات وتطوره (Vaddar، ٢٠٠٧) والفيتامينات (Torres-Rubio وزملاؤه، ٢٠٠٧). كما تنتج العديد من الانزيمات المحللة للمواد العضوية في التربة وإعادة دور العناصر وتجهيزها للنبات (Verma وزملاؤه، ٢٠١٠).

جدول (٧) . تأثير عوامل المكافحة الأحيائية في نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الباذنجان و بعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية.

المعاملة	نسبة الاصابة	شدة الاصابة	طول المجموع الخضري	طول المجموع الجذري	وزن طري خضري	وزن طري جذري	وزن جاف خضري	وزن جاف جذري	وزن الثمار
R.s	١٠٠,٠٠	٨٦,٦٦	12.2 6	8.10	10.43	6.70	4.93	4.10	11.06
R.s+A.c	٦٦,٦٧	٢٦,٦٦	38.56	35.66	46.30	32.46	15.33	12.13	47.46
A.c	٠,٠٠	٠٠,٠٠	57.06	51.26	64.73	51.10	25.50	18.66	58.86
Cont	٠,٠٠	٠,٠٠	57.50	43.26	52.06	47.73	19.63	16.23	56.40
LSD	٧١,٤	١٩,٢٢	٦,٣٦	٤,٨٤	٩,٠٤	٦,٧٥	٣,٣٨	٣,٧٤	١٩,٣٢

* كل رقم يمثل معدل لثلاثة نباتات , *Azotobacter chroococcum*=**Ac** , *Rhizoctonia solani* = **RS**

المصادر :

جبر، كامل سلمان، نجاة عدنان سعد، عامر محمد بندر.2002 . تقويم كفاءة بعض فطريات المقاومة الإحيائية في مقاومة الفطر *Rhizoctonia solani* لوحده أو مع ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* على الباذنجان. مجلة العلوم الزراعية العراقية – المجلد 33 (2) : 131 – 140.

جرجيس، ميسر مجيد ورقيب عاكف العاني وأياد عبد الواحد الهيتي. ١٩٩٣. أمراض النبات وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد. كلية الزراعة. ص٣١٣.

حسن، محمد صادق.2002 . قابلية عزلتين من الفطر *Rhizoctonia solani* على إصابة بادرات كل من اللهانة والقرنابيط والفلفل والباذنجان وبأعمار مختلفة. مجلة التقني – البحوث التقنية / المجلد الخامس عشر العدد 98 : 122 –128.

خليل ، محمود عبد العزيز إبراهيم. ٢٠٠٤. نباتات الخضر. منشأة المعارف.الإسكندرية. مصر.

طواجن, احمد محمد موسى . ١٩٧٥. بيئة البيوت الزجاجية . مطبعة جامعة البصرة . ص ٥٧١-٥٧٣.

مطلوب , عهد عبد علي هادي , ٢٠١٢. تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا وتقويم فعالية بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مـــــقاومتها . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة - جامعة بغداد .

ميخائيل، سمير، عبد الحميد طرابية وعبد الجواد الزرري.1981 . أمراض البساتين والخضر. مطبعة جامعة الموصل. 281 ص .

Agrawal, N. and H. P. Singh . 2002. Antibiotic resistance and inhibitory effect of Azotobacter on soil borne plant pathogens. Indian Journal of Microbiology 42: 245-246.

Alexopoulos, C. J., C.W. Mims and M. Blackwell. (1996). Introductory mycology, 4th Ed. John Wiley& Sons, New York. 868 pp.

Bergey"S Manual.(2004). Systematic Bacteriology. Williams and Wilking .Baltimore . London.

Bolkan , H. H. and E. E. Butler . 1974 . Studies on Heterokaryosis Virulence of *Rhizoctonia solani* . Phytopathology . 64 : 513 – 522 .

Brenner, D.J., N.R.Krieg and J.T. Staley. 2004. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilking.Baltimore. London .1136pp.

Dey, B. K. 1973. Bacterial inoculation in relation to root exudates and rhizosphere effect. 3 Effect of root exudates on the rhizosphere microflora of *Azotobacter* inoculated maize (*Zea mays* L.) and *Rhizobium* inoculated gram(*C. arietinum*). Ind. Agric. 17 : 125-133.

Dobereiner, J. 1974. Nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere. pp. 86-120. In Quispel,A. (Ed). The biology of nitrogen fixation. Elsevier Pub. Co. North-Holland. Amesterdam.

Fatima,Z.,M.Saleemi,M.Zia,T.Sultan,M.Aslam,R.,Rehman and M.F.Chaudhary .2009 .Antifungal activity of plant growth promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat.African Journal of Biotechnol.8(2):219- 225.

Fisher , C. G. and K. E. Conway . 1983 . Fluid Drilling : Apotential Delivery system for fungal Biological control Agents with small – seeded vegetables . Proc. Okla. Acad. Sci. 63 : 100 – 101 .

Georgi, C. E. and J. M. Ettinger. 1940. Utilization of Carbohydrates and Sugar Acids by The Rhizobia. Univ. of Nebraska, Lincoln, Nebraska. 323-340.

Hillel, D. 2005 .Bacteria Plant Growth Promotoning. Elsevier , Oxford, U.K. (1):103 -115.

Holt, J., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th Ed . Williams and Wilkins, USA.

Khider, A. and A. M., Khidher. 2011. Chromosomal *nif* genes transfer by conjugation in nitrogen fixing *Azotobacter chroococcum* to *Lactobacillus planetarium*. Current Res. J. of Biol. Sci. 3:155-164.

Mahdi, S. S., G. I. Hassan, S. A. Samoon, H. A. Rather, S. A. Dar, and B. Zehra. 2010. Bio-fertilizers in organic agriculture. J. of Phytol. 2: 42-54.

Mali, G. V. and M. G. Bodhankar. 2009. Antifungal and phytohormone production potential of *Azotobacter chroococcum* isolates from groundnut (*Arachis hypogea* L.). Asian J. Exp. Sci. 23: 293-297.

Mckinney, H.H..(1923).Biological control of nematode pests by natural enemies. Ann. Rev. Pytopathol. 18:415-440

Murcia, R. B., V. Salmeron Rodelas, M. V. T. Martinez and J. L. Gonzalez. (1997). Effect of the herbicide simazine on vitamin production by *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter vinelandii*. App. Soil Ecol. 6:187-193.

Parmeter , J. R. and H. S. Whitney. (1970). Taxonomy and nomencleature of the imperfect stage In: Rhizoctonia solani Biology and pathology. Parmeter, J. R. Univ. of California . 7–19.

Pridachina, N. N., E. D. Novoqrudskaia, E. B. Kruqliak, E. V. Chekasina and T. S. Korchak. 1982. *Azotobacter chroococcum*, a producer of a new antifungal antibiotic. Antibiotiki. 27: 3-6.

Shankarappa, T. H. and A. R. Madhav Rao. 1998 .Characterization and Identification of *Azotobacter* strains Isolated. from Mulberry Rhizosphere Soil. In : Biofertilizers and Biopesticiders. Deshmukh, A.M.. India. 1: 1-3.

Singh, T. 1977. Studies on interaction between Azotobacter chroococcum and some plant pathogens. IAP, Ph. D. Thesis . Cited from Can. J. Microb.

Thompson,J.P. and V.B.D. Skerman(1979). Azotobacteraceae. The Taxonomy and Ecology of Aerobic Nitrogen-Fixing Bacteria. Academic Press, London New Delhi

Torres-Rubio, M. G., S. A. Valencia-Plata, J. Bernal-Castillo and P. Martinaz-Nieto. (2007). Isolation of entrobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp, producers of indole -3-Acetic Acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiol. 42:171-176.

Vaddar, U. B. (2007). Studies on grape rhizosphere microorganisms. Master Thesis. Univ. of Agric. Sci. Dharwad. 91 pp.

Verma, J. P., J. Yadav, K. N. Tiwari, Lavakush and V. singh. (2010). Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop prodution. Int. J. of Agric. Res. 5: 954-983.