مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثالث والعشرون - المجلد الثامن - علوم الحياة - تموز 2024 م
doi.org/10.52866/esj.2023.08.23.03

استخدام بعض عوامل المكافحة الاحيائية البكتيرية في مكافحة الفطر *Rhizoctonia solani* في نباتات الخيار

ندى محمد عليوي ، هدير فارس حمودي ، ميس عبد الهادي مهدي ، زهراء كريم رحيم

مستخلص

اجريت هذه الدراسة بهدف تقييم كفاءة بكتريا *Bacillus subtillus* (B.s) و *Azotobacter chroococcum* (A.z) و *Pseudomnas fluorescens* (P.f) و *Azospirillum brasilense* (A.s) في تثبيط الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* مختبريا وفي الاصص . اظهرت النتائج تفوق العزلة Rh3 باعطائها اقل نسبة للانبات بلغت ٪10 على بذور الفجل و ٪20 على بذور الخيار ، اظهرت نتائج اختبار التخفيف المثبط لنمو الفطر ان اقل تخفيف فعال هو 10^{-5} بالنسبة لبكتريا A.z و بكتريا B.s اما بكتريا A.s و P.f فكان 10^{-6} و10^{-7} على التتابع .

كما تفوقت بكتريا P.f على باقي الانواع وبفروق معنوية احصائيا بتثبيط نمو الفطر الممرض حيث اعطت نسبة تثبيط ٪52.56 و ٪60.71 و ٪40.45 بعد 3 و 4 و 5 يوماً على التتابع .

وفيما يخص تجارب الاصص اظهرت معاملة البذور لعزلتي البكتريا P.f و A.s وخلائطهما في تربة معقمة خفض نسبة وشدة الاصابة الى ٪0.00 كما تفوقت معاملة الخلط بين العزلتين وبشكل معنوي احصائيا في خفض نسبة وشدة الاصابة اذ بلغت ٪10.32 و ٪12.30 على التتابع مقارنة مع معاملة الفطر الممرض اذ بلغت 78.83 و 70.22 ٪ على التتابع، كما ادت جميع المعاملات البكتيرية الى تحسين صفات المجموع الخضري والجذري وتفوقت معاملة البذور بخليط من العزلتين البكتيرية في تربة ملوثة لزيادة في معدل ارتفاع النبات وطول المجموع الجذري اذ بلغ 26.32 و 17.40سم على التتابع.

كما ادت الزيادة في الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري الذي بلغ 4.15 و 1.55 غم/ نبات على التتابع مقارنة مع معاملة الفطر الممرض 0.18 و 0.23 غم/ نبات على التتابع .

الكلمات المفتاحية: المكافحة الاحيائية، *Rhizoctonia solani* ، *Bacillus subtillus* ، *Azotobacter chroococcum* ، *Azospirillum brasilense* ، *Pseudomonas fluorescens* .

Using some bacterial biological agents in control of *Rhizoctonia solani* in cucumber plants

Nada Mohammad Aliwi , Hadeer Faris , Mays Abdulhadi, Zahraa Kareem

Abstract:

This study was conducted with the aim of evaluating the efficacy of *Bacillus subtillus(B.s) , Azotobacter chroococcum(A.z) , Pseudomnas fluorescens(P.f) and Azospirillum brasilense (A.s)* in inhibiting the pathogen *Rhizoctonia solani* in the laboratory and potting ,The results revewed heghly significant reduction in the percentage of radish seed germination, as the Rh3 isolate was superior by giving it the lowest germination rate of 10% and 20% on cucumber seeds . 10^{-5} for A.z bacteria and B.s bacteria . As for A.s bacteria and P.f was 10^{-6} and 10^{-7} respectivily .

P.f bacteria also outperformed the rest of the species, with significant differences in inhibiting the growth of the pathogen, as it gave an inhibition rate of 52.56%, 60.71% and 40.45% after 3, 4 and 5 days respectivily.

With regard to the potted experiments, the treatment of seeds for isolates of Pf and AS and their mixtures in sterile soil showed a reduction in the percentage and severity of infection to 0.00%. The mixing treatment between the two isolates also significantly improved statistically in reducing the percentage and severity of infection, as it reached 10.32% and 12.30% respectively,Cormpared with Rh3 treatment was 78.83 and 70.22 respectivily. As it all performed Bacterial treatments improved the characteristics of the shoot and root system. The treatment of seeds with a mixture of the two bacterial isolates in contaminated soil was superior to an increase in the rate of plant height and root system length, which reached 26.32 and 17.40 cm respectively.

The increase in the fresh weight of the shoots and roots, which reached 4.15 and 1.55 g / plant, respectively, compared with the treatment of pathogenic fungi 0.18 and 0.23 g / plant respictivily.

Key words: Biocontrol, *Rhizoctonia solani, Bacillus subtillus, Azotobacter chroococcum, Pseudomnas fluorescens, Azospirillum brasilense*.

المقدمة Introduction:

يعد نبات الخيار *Cucumis sativue* L من اهم نباتات العائلة القرعية Cucurbitaceae يعتبر الخيار من المحاصيل الاقتصادية سريعة النضج والمرغوبة في العراق حيث تزرع في العديد من دول العالم ومنها العراق تحت ظروف الزراعة المحمية والمكشوفة (19) ويتعرض نبات الخيار للاصابة بالعديد من المسببات المرضة الفطرية مثل *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solain* بالاضافة لجنس الـ *Pythium Phytophthora* ,، التي تتسبب بتعفن البذور وسقوط البادرات وتعفن الجذور سواء تحت ظروف البيت الزجاجي او الحقل (11 ، 23) ان استخدام المبيدات الكيميائية لمكافحة المسببات المرضية فشلت في ايجاد الحلول المناسبة لها وذلك بسبب النواتج الايضية لهذه المبيدات التي تسبب باحداث الاورام السرطانية والطفرات الوراثية اضافة الى ظهور سلالات من الفطريات مقاومة او متحملة للمبيدات الفطرية (20 ، 24) وكان البديل عن استخدام المبيدات الفطرية هو استخدام المكافحة الاحيائية Biological Control والذي يعتمد على استخدام الكائنات الحية المفيدة ومنها البكتيريا ، حيث استخدمت انواع تعود الى البكتريا المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting rhizobacteria ز(PGPR) والتي تضم الاجناس *Pseudomonas* spp و *Bacillus* spp و *Azotobacter* spp وبكتيريا *Azospirillium* spp (15) التي تعمل عن طريق افرازها الانزيمات المحللة او الحوامض كحامض ال Salicylic acid وا ندول حامض الخليك Indol Acetic Acid وسيانيد الهيدروجين Hydrogen Cyanide ومركبات الـ Sid-erophores والمركبات الايضية الثانوية والتي تتضمن انواع مختلفة من المضادات الحياتية Antibiotic وتعد الاخيرة من اهم اليات التضاد ضد الفطريات وبقية الاحياء المجهرية (21) لذلك هدفت هذه الدراسة الى عزل وتشخيص الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* واختبار قدرته الامراضية مختبرياً. و اختبار فعالية وكفاءة بعض المخصبات الحيوية مثل بكتريا *subtillus* و *Bacillus* و *pseudomonas fluorescence* و-*chroococ* *Azotobacter cum* و *Azospirillum brasilense* ، في تثبيط نمو الفطر الممرض مختبرياً و تقويم كفاءة عزلتي البكتريا المنتخبة وتوليفاتها في مكافحة الفطر الممرض في الاصص.

المواد وطرائق العمل
Materials and Methods:

1. عزل الفطر وتشخيصه:

جمعت نباتات مصابة تظهر عليها اعراض الذبول والاصفرار من حقول مناطق مزروعة بالخيار في محافظة بغداد (الطارمية – التاجي – العبايجي – ابو غريب – المحمودية)، نظفت جذور النباتات تحت ماء الحنفية لازالة الاتربة منها وقطعت الجذور الى اجزاء صغيرة بطول 1 سم ثم عقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (٪1 كلور حر) لمدة دقيقتين ، غسلت القطع بالماء المعقم ثلاث مرات لمدة دقيقتين ثم تركت لتجف على ورق الترشيح، زرعت الجذور في اطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط الزرعي PDA المعقم بجهاز المؤصدة 121مْ وضغط 1.5 كغم/ سم^2 لمدة 15 دقيقة مضاف اليه بعد التبريد المضاد الحيوي Tet-ra cycline بتركيز 200 ملغم / لتر، وذلك لمنع نمو البكتريا وبواقع (5 قطع / طبق) ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 27±2 مْ مدة ثلاثة ايام ، بعد نمو المستعمرات على الوسط أخذ جزء منها وفحص تحت المجهر الضوئي للتحري عن مستعمرات الفطر اعتمادا على الصفات التي ذكرها (9) ، بعدها تم نقل جزء من كل مستعمرة نقية الى اطباق جديدة حاوية على الوسط

PDA ثم حضنت بدرجة 27± 2مْ مدة 4 ايام ونقل جزء من طرف مستعمرة الفطر الى انابيب اختبار حاوية على الوسط PDA المعقم بواسطة ابرة التلقيح المعقمة باللهب وحضنت الانابيب على درجة حرارة 27±2 مْ مدة 4 ايام وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام .

2. اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر الممرض باستخدام بذور الفجل مختبريا :

تم اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر التي تم الحصول عليها من عملية العزل وفق طريقة (10) وذلك بتحضير اطباق بتري بقطر 9 سم تحتوي على 20-15 مل من الوسط الزرعي water agar (الاكار المائي) حيث تم تحضيره باذابة 20 غم من الاكار في لتر من الماء المقطر والمعقم بجهاز المؤصدة درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم/ سم^2 لمدة 15 دقيقة والمضاف له بعد التبريد المضاد الحيوي Tetracy-cline بتركيز 250 ملغم/ لتر، وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الاطباق في مركزها بقرص قطر 0.5 سم اخذ بالقرب من حواف المستعمرة النامية للفطر بعمر 5 ايام ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27 ± 2 م° مدة ثلاثة ايام، عقمت بذور الفجل بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1٪ كلور حر) بعدها غسلت البذور بالماء المعقم وجففت ثم وزعت بصورة دائرية حول حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة/ طبق حيث استعملت ثلاثة اطباق كمكررات بالاضافة الى معاملة المقارنة من دون اضافة الفطر الممرض، ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27±2 م° . بعد 7 أيام تم حساب النسب المئوية للبذور النابتة حسب المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100$$

3. اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر الممرض بأستخدام بذور الخيار في الاصص:

حضرت اصص بلاستيكية سعة 1كغم تربة وملئت بتربة مزيجية (2تربة: 1 بتموس) معقمة بجهاز المؤصدة 121 مْ وضغط 1.5كغم /سم^2 لمدة نصف ساعة ولمرتين. تم اكثار عزلات الفطر بتنميتها على بذور الدخن المعقم بجهاز المؤصدة 121مْ وضغط 1.5 كغم/ سم^2 لمدة 15دقيقة (اخذ 50 غم من بذور الدخن المغسول بالماء ووضع في فلاسك سعة 250مل واضيف اليها كمية مناسبة للترطيب) وبعد التبريد لقح كل فلاسك بعزلة من عزلات الفطر وحضنت الفلاسكات في الحاضنة بدرجة حرارة 27±2 مْ لمدة 7 أيام وحفظ بالثلاجة لحين الاستخدام استخدمت ثلاث أصص لكل عزلة فطرية مع ترك ثلاثة للمقارنة واضيف لكل أصيص مقدار 10 غم من اللقاح الفطري ثم سقيت الاصص جميعا وغطيت بالنايلون لمدة ثلاثة أيام ثم زرعت ببذور الخيار المعقمة بهايبوكلورات الصوديوم (1كلور حر) لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المعقم .بعد 7 أيام تم حساب النسب المئوية للبذور النابتة لجميع المعاملات حسب المعادلة المذكورة في الفقرة 2.

4. تحضير العوالق للعزلات البكتيرية:

حضر الوسط الزرعي السائل Nutrient broth المعقم بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121 مْ وضغط 1.5 كغم/ سم^2 لمدة 15 دقيقة في دوارق زجاجية سعة 250 مل حيث زود كل دورق بـ 100 مل من الوسط الزرعي وبعد تبريده لقحت الدوارق باستخدام اللوب لكل عزلة بكتريا وهي *Pseudomonas fluorescens,* *Azospirillum brasilense* و *Azo-tobacter chroococcum* و *Bacillus subtillus* (التي تم الحصول عليها من وزارة العلوم والتكنولوجيا)كل عزلة بشكل منفصل النامية على الوسط الزرعي الصلب Nu- agar trient بعمر 3 ايام كل على حدة بعد التلقيح حضنت

الدوارق بحاضنة هزازة (shaker incubator) بدرجة حرارة 28 مْ لمدة 48– 72 ساعة.

5. **أختبار التخفيف المثبط لنمو الفطر الممرض في الاطباق :**

تم تحضير سلسلة من تخافيف العالق البكتيري لكل عزلة من العزلات الاربعة على حدة، اذ أخذ 1 مل من عالق كل بكتريا المنماة على الوسط الزرعي السائل Nutrient broth (N.B) بواسطة محقنة طبية ثم اضيف الى انبوبة اختبار تحتوي على 9 مل ماء مقطر معقم ليتكون التخفيف 10^{-1} وكررت العملية على باقي الانابيب للحصول على سلسلة من التخافيف 10^{-1} الى 10^{-10} بعدها أضيف 1 مل / طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري ثم صب الوسط الزرعي PDA المبرد الى الاطباق وحرك الطبق حركة رحوية لتوزيع اللقاح البكتيري بشكل متجانس وبمعدل ثلاثة اطباق لكل تخفيف مع ترك ثلاث اطباق للمقارنة ثم لقحت الاطباق بقرص قطره 0.5 سم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر الممرض النامي على الوسط الزرعي ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27±2 مْ حتى وصول النمو في معاملة المقارنة الى حافة الطبق وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وحسب المعادلة التالية :

$$\text{٪ للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر مستعمرة الفطر في المقارنة – معدل قطر مستعمرة الفطر في المعاملة البكتيرية}}{\text{معدل قطر مستعمرة الفطر في المقارنة}} \times 100$$

6. **اختبار فعالية العزلات البكتيرية في تثبيط نمو الفطر الممرض:**

لدراسة تأثير الفعالية التضادية للانواع البكتيرية الاربعة ضد عزلة الفطر الممرض استخدمت الطريقة المتبعة من قبل (16) وذلك بأخذ قرص قطره 0.5سم من حافة مستعمرة الفطر النامية على الوسط الزرعي PDA بعمر 5 ايام ووضع القرص في مركز الطبق (قطر 9سم) ثم عمل خط دائري حول كل قرص قطره 5سم من خلال غمر غطاء بتري قطر 5سم في العالق البكتيري لكل عزلة على حدة وبالتخافيف التي تم الحصول عليها من الفقرة 5 وبثلاث مكررات لكل معاملة بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27±2مْ ثم اخذ قياس معدل النمو الفطري للفطر بشكل يومي ولغاية وصول النمو حافة الطبق في معاملة المقارنة الذي أضيف اليها الماء المقطر بدل العالق البكتيري بمعدل ثلاث مكررات حيث سجلت قيم النمو الفطري للفطر بفترة 3 و4 و 5 يوم بمعدل ثلاث قراءات لكل معاملة ثم حساب النسبة المئوية لتثبيط لنمو الفطر الممرض للعزلات البكتيرية الاربعة حسب المعادلة:

$$\text{٪ لتثبيط النمو الفطري} = \{1 - (\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{لفطري في معاملة المقارنة}})\} \times 100$$

7. تقويم كفاءة بعض العوامل البكتيرية في مكافحة الفطر الممرض في الاصص:

أستخدمت اصص بلاستيكية ذات سعة 2 كغم تربة مزودة بتربة مزيجية معقمة ، عقمت التربة التي أخذت من المشاتل وبعد اضافة البتموس اليها بنسبة (2-1) على التتابع حضر محلول مكون من (1 مل فورمالين: 50 مل ماء) من الفورمالين التجاري بعدها وضعت التربة في احواض بلاستيكية لغرض ترطيبها بمحلول الفورمالين ثم وضعت في اكياس بولي اثيلين (نايلون) واغلقت بشكل جيد مدة ثلاثة أيام ، ثم نشرت التربة على قطعة نايلون تحت الشمس لمدة ثلاثة ايام وقلبت بشكل مستمر للتخلص من بقايا الفورمالين (3) ثم وزعت التربة على الاصص ، تمت اضافة الفطر المنمى على بذور الدخن الى الاصص قبل 3 ايام من الزراعة بمقدار 10 غم/ اصيص، اما اصص المقارنة التي تحوي تربة معقمة فقط أضيف لها بذور دخن غير ملوثة بالفطر الممرض ثم زرعت الاصص ببذور الخيار صنف هولندي وذلك بعد غسلها بالماء المعقم وتمت الزراعة بواقع 10 بذور / اصيص، استخدمت عزلات البكتريا المنتخبة من التجارب المختبرية وهي *P. fluorescens* , *A.brasilense* بأضافة العالق البكتيري لكليهما وحسب طريقة المعاملة في حين أضيف المبيد الكيميائي uniform بالتركيز الموصى به من قبل الشركة المنتجة له (1 مل / لتر) بأضافة 50 مل / اصيص اثناء زراعة البذور استعمل تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) بـ 9 معاملات وبثلاث مكررات لكل معاملة ، حيث تضمنت التجارب ما يأتي :

1. السيطرة : نقع البذور بالماء فقط مدة ساعة وزراعتها في تربة معقمة فقط.
2. الفطر الممرض *R. solani* : نقع البذور بالماء مدة ساعة وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر .
3. بكتريا *P. fluorescens* : نقع البذور بالعالق البكتيري مدة ساعة وزراعتها في تربة معقمة.
4. بكتريا *A.brasilense*: نقع البذور بالعالق البكتيري مدة ساعة وزراعتها في تربة معقمة .
5. خليط البكتريا *pf+As* : نقع البذور بخليط البكتريا (1:1) مدة ساعة وزراعتها في تربة معقمة .
6. بكتريا *R.s+pf* : نقع البذور بالعالق البكتيري مدة ساعة وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر الممرض.
7. بكتيريا *R.S +As* : نقع البذور بالعالق البكتيري مدة ساعة وزراعتها في تربة ملونة بالفطر الممرض.
8. خليط البكتريا *R.s+pf+As*: نقع البذور بخليط البكتيريا (1:1) وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر الممرض.
9. معاملة المبيد + *R.s* : نقع البذور في الماء مدة ساعة وزراعتها في تربة ملوثة بالفطر الممرض واضافة 50 مل / اصيص من المبيد عند زراعة البذور.

النتائج والمناقشة:

1. عزل وتشخيص الفطر الممرض :

اظهرت النتائج وجود عزلات مختلفة ظاهرياً من حيث سرعة النمو بالاضافة الى الاختلاف بلون المستعمرات الذي يتراوح من اللون البني الى البني الفاتح.

أذ تم الحصول على خمس عزلات من الفطر جدول (1) من خلال الفحص المجهري لعزلات الفطر تبين وجود غزل فطري مقسم يتراوح لونه من بني الى بني مبيض ومكون من خلايا قصيرة وكثيرة ، كما ان الخيوط الفطرية متفرعة بشكل زوايا قائمة ومتعامدة مع الخيط الفطري الرئيسي ، اضافة لوجود تخصر في منطقة النشوء للخلايا المتفرعة وتكوينها حواجز مستعرضة وأن جميع الصفات التي لوحظت بالفحص المجهري تنطبق على خواص وصفات النوع *R.solani* الموثقة في المصادر العالمية (14،7).

جدول (1):

عزلات الفطر الممرض المستخدمة في الدراسة

رمز العزلة	اماكن الحصول عليها
Rh1	العبايجي
Rh2	التاجي
Rh3	الطارمية
Rh4	ابو غريب
Rh5	المحمودية
Rh6	مختبر السموم الفطرية / قسم وقاية النبات / كلية علوم الهندسة الزراعية / جامعة بغداد

كما بينت الدراسات السابقة بوجود عزلات عديدة لهذا الفطر تختلف فيما بينها بالصفات المزرعية، كما اوضح الباحثين بان احد المسببات الرئيسية الاكثر تكراراً لمرض سقوط البادرات في المشاتل والحقول هو الفطر *R.solani* (2,4,6).

2. أختبار المقدرة الامراضية للفطر الممرض مختبريا وفي الاصص :

بينت نتائج الجدول (2) بأن جميع عزلات الفطر المختبرة أحدثت خفضاً معنويا بالنسبة المئوية لانبات بذور الفجل قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها ٪95 حيث تفوقت العزلة Rh3 في خفض النسبة المئوية اذ بلغت ٪10، في حين كانت اعلى نسبة أنبات هي ٪45 للعزلة Rh1 وقد يعود الاختلاف بالقدرة الامراضية بين العزلات بمستوى افراز الانزيمات المحللة للسليلوز والبكتين المسؤولة عن حدوث تعفن بالبذور وبالتالي منعها من الانبات، اضافة الى دور انزيم proteinase بتحديد القدرة الامراضية لفطر *R. solani* ، كما احدثت جميع العزلات خفضا معنويا في النسب المئوية لانبات بذور الخيار في الاصص ، أذ تفوقت العزلة Rh3 في خفض الانبات الى ٪20 مقارنة مع معاملة المقارنة ٪96 وبفروق معنوية أحصائيا تلتها العزلة Rh5 اذ بلغت نسبة الانبات ٪30 وكانت أعلى نسبة انبات ٪50 للعزلة Rh1. وقد يعود الاختلاف بالقدرة الامراضية بين العزلات بمستوى افراز الانزيمات المحللة للسليلوز والبكتين المسؤولة عن حدوث تعفن بالبذور وبالتالي منعها من الانبات، اضافة الى دور انزيم proteinase بتحديد القدرة الامراضية لفطر *R. solani* (5).

جدول (2) المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *R. Solani* باستخدام بذور الفجل على الوسط Water agar وعلى بذور الخيار في الاصص.

العزلات	٪ الانبات في الاطباق	٪ للانبات في الاصص
Rh1	*45	50
Rh2	39	43
Rh3	10	20
Rh4	26	32
Rh5	25	30
Rh6	30	40
Control	95	96
L.S.D	13.4	9.3

3. اختبار فعالية عزلات البكتيرية ضد الفطر *Rhizoctonia solani*:

تحديد التخفيف المثبط لنمو الفطر الممرض على الوسط الزرعي PDA:

بينت نتائج الجدول (3) ان اقل تخفيف فعال هو 10^{-5} في البكتريا *A.chroococcum* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100 ٪ ، كما ان التراكيز الاخرى 10^{-7} ، 10^{-10} ، اعطت نسب تثبيط مختلفة حسب التخفيف مع وجود فروق معنوية فيما بينها كما انها مختلفة معنويا عن المقارنة التي تكون فيها نسبة التثبيط ٪0.00.

وقد يعود تأثير هذه البكتريا بتثبيط نمو الفطر

الممرض لقدرتها على منافسة الفطر باستغلال الوسط الغذائي بشكل جيد، وقدرة البكتريا *A.chroococcum* على الاستفادة من المواد الكاربوهيدراتية في الوسط الزرعي، اضافة الى تباين المنتجات الايضية التي تنتجها هذه البكتريا (8). اما بكتريا *B.subtillus* فكان ايضا اقل تخفيف فعال لها هو 10^{-5} حيث بلغت نسبة التثبيط للتخفيفين 10^{-6} و 10^{-7} هو 75.5 ٪ و70.84٪ على التتابع ، اما معاملة المقارنة فقد سجلت نسبة تثبيط 0٪، وقد تعود القدرة التثبيطية لبكتريا *B.subtillus* بتأثيرها في العمليات الايضية للفطر كتخليق البروتين وانتاج مركبات ثانوية تعمل على تثبيط نمو الغزل الفطري (17).

وبالنسبة لبكتريا *A.brasilenes* فقد اظهرت النتائج ان اقل تخفيف فعال كان 10^{-6} الذي احدث نسبة تثبيط بلغت 85.8 ٪، وهذه البكتريا تعمل على تثبيط نمو الفطر المستهدف بأفرازها المواد الايضية والانزيمات القادرة على تحليل الجدران الخلوية للهايفات (15). اما بكتريا *P. fuorescens* فكان اقل تخفيف فعال هو 10^{-7} أذ بلغت نسبة التثبيط فيه 93.4 ٪ ، وتعود قدرة بكتريا *P.fluorescens* على التثبيط لانتاجها مركبات ايضية مثل مضادات حياتية و اندول حامض الخليك وسيانيد الهيدروجين حيث ان تراكم مثل هذه المواد عادة يكون في التخافيف الاولى 10^{-1}، 10^{-2} ، 10^{-3} يعمل على زيادة نسبة التثبيط عندما يكون العمل في وسط زرعي واطباق (13).

جدول (3) تحديد التخفيف الفعال من العوالق البكتيرية في تثبيط نمو الفطر *R.solani* على الوسط الزرعي PDA

	A.z+Rh3	B.s+Rh3	A.s+Rh3	P.f+Rh3
التخفيف	٪ للتثبيط	٪ للتثبيط	٪ للتثبيط	٪ للتثبيط
10^{-1}	100	100	100	100
10^{-2}	100	100	100	100
10^{-3}	100	100	100	100
10^{-4}	100	100	100	100
10^{-5}	100	100	100	100
10^{-6}	79.3	75.50	100	100
10^{-7}	71.5	70.84	85.8	100
10^{-8}	63.3	65.4	78.5	93.4
10^{-9}	57.77	53.4	66.4	77.8
10^{-10}	46.3	30.55	56.3	63.5

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات.**

Bacillus subtillus = B.s , *Azotobacter chroococcum* = A.z , *Pseudomonas fluorescens* = P.f
Azospirillum brasilense = A.s , *Rhizoctonia solani* = Rh3

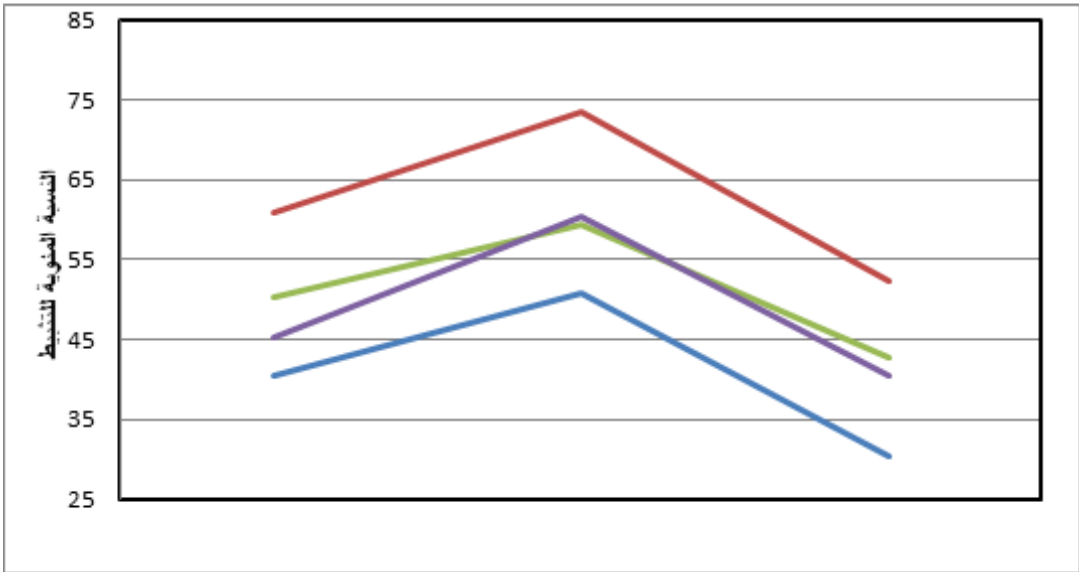
4. اختبار فعالية العزلات البكتيرية بتثبيط نمو الفطر الممرض *R.solani* في الاطباق :

اظهرت عزلات البكتريا خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لتثبيط الفطر *R.solani* اذ تفوقت بكتريا

p.fluorescens على باقي الانواع وبفروق معنوية احصائيا وبنسب متباينة حيث بلغت بعد 3 و 4 و 5 يوما (62.56٪ ،54.24٪ ،76.32٪) على التتابع ومن جهة اخرى اعطت بكتريا *B.subtillus* اقل نسبة تثبيط والتي بلغت (40.45٪ ،60.71٪ ،52.56٪) على التتابع، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره بعض الباحثين بخصوص قدرة بكتريا *p.fluorescens* بتثبيط نمو العديد من الفطريات الممرضة من خلال انتاجها بعض الانزيمات مثل انزيم chitinase , chitosanase اللذان يعملان على تحطيم مادة الكايتين في جدران خلايا الفطريات . (18).

فضلا عن انتاجها للمضادات الحياتية كالـ hydro-gen cyanide و phenazine carboxylic acid اضافة إلى مركبات نازعة للحديد siderophores والتي تعيق ايصاله للفطر الممرض (21).

ان حدوث تغير في العمليات الايضية واستنفاذ المواد الغذائية وقلة ذوبان الاوكسجين نتيجة زيادة عدد الخلايا في طور التباطؤ بعد 5 يوم من المعاملة يسبب تراكم الفضلات السامة في الوسط الزرعي أضافة لانحراف الاس الهيدروجين عن الحد الامثل لنمو الخلايا بسبب تغيير في جهد الاكسدة والاختزال وهذا كله يتفق مع ما ذكره (1). **شكل رقم (1):**



	3 يوم	4 يوم	5 يوم
P.f	62.56	76.32	54.24
A.s	58.40	66.43	52.2
A.z	54.53	61.80	43.21
B.s	52.56	60.71	40.45

شكل رقم (1) : فعالية عزلات البكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و *Bacillus subtillus* و *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* على الوسط الزرعي PDA .

5. تقويم كفاءة بعض العوامل البكتيرية في مكافحة الفطر الممرض في الاصص :

اظهرت نتائج الجدول (4) ان البكتريا P.f والبكتريا A.s وخليطهما في تربة معقمة قد اعطت نسبة اصابة وشدة اصابة صفر ٪ اي لم تظهر اي ضرر على النبات مقارنة بمعاملة الفطر الممرض الذي اعطى نسبة وشدة اصابة بلغت ٪78.83 و 70.22 ٪ على التتابع وبفروق معنوية احصائيا وقد يعود ذلك الى ان البكتريا هذه تعمل على افراز منظمات النمو وتشجع على الانبات ونعمل على تجهيز العناصر الغذائية للنبات حيث اعطت معاملة بكتريا p.f بوجود الفطر الممرض نسبة وشدة اصابة 22.21 ٪ و ٪20.22 على التتابع، اما بكتريا A.s بوجود الفطر الممرض بلغت نسبة و شدة اصابة 20.71 ٪ و ٪16.50 على التتابع ، اما معاملة الخلط بين عزلتي البكتريا بوجود الفطر اعطت اقل نسبة وشدة اصابة التي بلغت ٪10.32 و ٪12.30 على التتابع .(23) .

جدول (4) معاملة بذور الخيار بالعزلات البكتيرية المنتخبة وخلائطهما واثرها على نسبة وشدة الاصابة لنبات الخيار في الاصص

المعاملة	الاصابة ٪	شدة الاصابة ٪
Cont	0	0
Rh3	78.83	70.22
P.f	0	0
A.s	0	0
P.f + A.s	0	0
P.f + Rh3	22.21	20.22
A.s + Rh3	20.71	16.50
P.f + A.s+ Rh3	10.32	12.30
Uni + Rh3	14.35	12.62
L.S.D 0.05	8.22	3.9

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات
Cont= معاملة السيطرة،
Pseudomonas fluorescens= P.f ,
Azospirillum brasilense= A.s ,
Rhizoctonia solani= Rh3 ,
Uniform = Uni

اما معايير النمو الخضري والجذري الوزن الطري والجاف فأعطت معاملة بكتريا *P.f* اعلى معدل لطول النبات حيث بلغت 27.76 سم كما مبين في الجدول (5) وطول المجموع الجذري 17.33 سم، والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري كان 2.56 و 1.50 غم على التوالي، ويعود ذلك الى ان استعمال البكتريا *P.f* يعمل على تحسين معايير النمو والانتاج للمحصول اضافة الى استحثاث المقاومة الجهازية للنبات (21). ويتضح هذا ايضا في معاملة البذور ببكتريا *P.f* بتربة ملوثة بالفطر فقد اعطت معدل ارتفاع للمجموع الخضري والجذري بلغ 25.55 سم و 15.39 سم على التتابع اما الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري كان 1.78 غم و 0.65 غم على التتابع ، ووزن طري وجاف للمجموع الجذري 0.57 غم و 0.08 غم على التتابع، كذلك بكتريا *A.s* سببت زيادة معنوية واضحة في معدل ارتفاع النبات للمجموعين الخضري والجذري الذي بلغ 22.34 سم و 16.03 سم على التتابع، وبلغ معدل الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 3.40 غم و 0.25 غم على التتابع، اما الوزن الطري للمجموعين الخضري والجذري 2.11 غم و 1.38 غم قياسا بمعاملة الفطر الممرض التي ادت الى خفض بمعدل ارتفاع النبات 8.03 سم وطول المجموع الجذري 5.76 غم، اما معاملة البذور بعالق بكتريا A.s في تربة ملوثة بالفطر اعطت معدل ارتفاع للنبات بلغ 24.16 سم وطول المجموع الجذري 15.03 سم اما الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري 1.65 غم و 0.51 غم على التتابع، اما الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري 0.80 غم و 0.09 غم على التوالي. اما معاملة التداخل بين عزلتي البكتريا بوجود الفطر الممرض Rh3 اعطت معدل طول للمجموع الخضري 26.32 سم والمجموع الجذري 17.40 سم وبالنسبة للوزن الطري للمجموع الخضري 4.15 غم والجذري

1.55 غم، والوزن الجاف للمجموع الخضري 1.30 غم والجذري 0.55 غم، كذلك معاملة المبيد Uni ادت الى زيادة معدل ارتفاع النبات حيث بلغ 25.42 سم والمجموع الجذري 14.83 سم وبالنسبة للوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 1.70 غم و 0.54 غم على التوالي والوزن الطري 4.58 غم و 1.85 غم على التوالي، ويعزى ذلك لان المبيد Uniform يتكون من المادتين الفعالة Azoxystrobin و Metalaxyl التي لهما تأثير واسع على عدد من فطريات التربة. وبذلك فان استخدام المخصبات الحيوية (Biofertilization) او المبيد الكيميائي (Uniform) مع الفطر الممرض ادت الى خفض نسب وشدة الاصابة من جهة وعملت على زيادة معايير النمو من جهة اخرى، وتكون الية عمل المبيد والمخصبات الحيوية من خلال رفع المقاومة الذاتية للنبات بزيادة محتوى النبات من العناصر المغذية وتحفيز انزيمات النبات الدفاعية وذلك ينعكس ايجابيا على زيادة مقاومة نباتات الخيار للمسبب المرضي (12،22) .

جدول (5) معاملة بذور الخيار بعزلة البكتريا *P. fluorescens* و *A.brasilense* وخلائطهما واثر ذلك على بعض معايير النمو لنبات الخيار في الاصص

المعاملات	معدل ارتفاع النبات (سم)	طول المجموع الجذري (سم)	وزن طري للمجموع الخضري (غم/ نبات)	وزن جاف للمجموع الخضري (غم/ نبات)	وزن طري للمجموع الجذري (غم/ نبات)	وزن جاف للمجموع الجذري (غم/ نبات)
Cont	19.16	14.60	2.85	0.93	0.77	0.20
Rh3	8.03	5.76	0.81	0.43	0.23	0.05
P.f	27.76	17.33	2.56	1.50	0.80	0.14
A.s	22.34	16.03	2.11	3.40	1.38	0.25
A.s+P.f	20.30	18.93	2.93	1.76	0.45	0.33
A.s + Rh3	24.16	15.03	1.65	0.80	0.51	0.09
P.f + Rh3	25.55	15.39	1.78	0.65	0.57	0.08
P.f + A.s+ Rh3	26.32	17.40	4.15	1.30	1.55	0.55
Uni + Rh3	25.42	14.83	4.58	1.70	1.85	0.54
L.S.D 0.05	8.49	2.01	2.30	0.48	0.95	0.03

* كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات. Cont= معاملة السيطرة،

Uniform= Uni ، *Azospirillum brasilense= A.s* ، *Pseudomonas fluorescens= P.f* ، *Rhizoctonia solani= Rh*3

المصادر:

1. الخفاجي، علاء حميد محمد. 2008. دراسة مرض الذبول الفيوزارمي على الفلفل ومكافحته. رسالة ماجستير.كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل.

2. العيساوي، جاسم محمود عبد فراس. 2010. المكافحة المتكاملة لمرض سقوط البادرات على الباذنجان المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* kuhn. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 75ص.

3. خلف، جمال مهدي . 2017 . اختبار تأثير

البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ومستخلصات بعض النباتات لمكافحة الفطرين *R.solani* و *F.solani* المسبب لمرض تعفن جذور الفلفل . رسالة ماجستير . هيئة التعليم التقني . الكلية التقنية / المسيب .113 ص.

4. عبد علي، قاسم عبد الحسن والاء خضير حسان. 2016. تأثير مستخلص الصابونين من بذور واوراق نبات الكينوا في نمو الفطر الممرض Rhizoctonia solani والنسبة المئوية لموت بادرات الخيار. المؤتمر العلمي الاول للبحوث الزراعية. العدد الخامس. 415 – 430 .

5. عبدو، رانيا حاج، بسام بياعة وعباس عباس. 2012. تحديد المجموعات التشابكية لمجتمع الفطر على البطاطا/ البطاطس في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 30: 10-1 .

6. مطلوب، عهد عبد علي هادي. 2012. تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا وتقويم فعالية بعض عوامل المكافحة الاحيائية في مقاومتها. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 182ص.

7- Andersen, T.F. 1996. A comparative taxonomic study of *Rhizoctonia solani* employing morphological, ultrastructural and molecular methods . Mycological Research. Volume 100, Issue 9, 1117-1128.

8-AL-Azawy, A.Q.W. 2010. Efficiency of interaction between *Azotobacter* sp.and arbuscular mycorrhizal fungi for their potential to stimulate tomato (*Lycopersicon escolentum* Mill.) plant resistance to root rot disease. Diss. College of Science- Baghdad Univ.112 pp.

9- Blazier, Stacy & Conway, Kenneth. (2004). Characterization of Rhizoctonia solani Isolates Associated with Patch Diseases on Turfgrass. Pros. Okla. Acad. Sci. 84: 41-51.

10- Bolkan , H. A., and D. F. Bulter . 1974. Studies on heterokaryosis and virulence of *Rhizoctonia solani* . phytopathology . 64;513-522.

11-De Curtis F, Lima G, Vitullo D, De Cicco V (2010) Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by delivering antagonistic bacteria through a drip irrigation system. Crop Prot 29(7):663–670

12-El-Nemr, M.A. ; M. El-Desuki ; A.M. El-Bassiony and Z.F. Fawzy.2012. Response of growth and yield of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) to different foliar applications of humic acid and bio-stimulators. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 6(3): 630-637.

13-Kavroulakis, N., S. Ntougias, M.I. Besi, P. Katsou, A. Damaskinou, K. Ehaliotis, G.I. Zervakis and K.K. Papadopoulou . (2010) . Antagonistic bacteria of composted agro-industrial residues exhibit antibiosis against soil-borne fungal plant pathogens and protection of tomato plants from *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*. Plant Soil 333:233-247

14-Khedri, Z., A. Heydari and H. Azimi. 2014. Effects of damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani* on growth characteristics of cotton seedlings. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. IJACS/2014/7-11/78

15- Mansoori M, Heydari A, Hassanzadeh N, Rezaee S, Naraghi L (2013) Evaluation of *Pseudomonas* and *Bacillus* bacterial

22- Siddiqui, (2017) "PGPR prospective biocontrol agents of plant pathogens"Biocontrol and Biofertilization. 111-142aphanidermatum.

23-Sultana, N. Ghaffar, A. 2013. Effect of fungicides, microbial antagonists and oil cakes in the control of *Fusarium oxysporum*, the cause of seed rot and root infection of bottle gourd and cucumber. Pakistan Journal of Botany. 45 (6): 2149-2156.

24 -Thuy, T.T. (2015). Effect of DDT on environment and human health. Journal of Education and Social Sciences, Vol. 2, (Oct.) ISSN 2289-9855.

antagonists for biological control of cotton Verticillium wilt disease. J Plant Protect Res 53(2):154–157

16-Montealeger, J. R., R. Rodrigo, P. M. Luz ,H. Rodrigo, S. Polyana and B. Ximena. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato .J. Biotec . 6 : 115-127.

17-Mwangi, F.M.; Hauschild, R.; Sikora, R.A. and Mutitu, E .2002. Dose HCN from *Pseudomonas fluorescens* isolate T58 contribute in biocontrol of *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*. Plant Disease, 46: 119-121.

18 - Raza ,W .; Ling ,N.; Liu , D.; Wei ,Z.; Huang , Q. and Shen ,Q.(2016). Volatile organic compounds produced by *pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum* . Microbiological Research .192; 103-113.

19-Rur, M. 2016. Developing IPM Tools for Greenhouse Cucumber Production in Sweden–AParticipatory Action Research Approach. Thesis Dectoral, ScienceDepartment of Plant Protection Biology. Swedish. University ofAgricultural Sciences. 102 pp.

20-Sande D, Mullen J, Wetzstein M, Houston J. 2011. Environmental impacts from pesticide use: a case study of soil fumigation in Florida tomato production. Int J Environ Res Public Health. Dec;8(12):4649-61.

21-Santoyo G., Ma. Orozco-Mosqueda d. C., Govindappa M. (2012). Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. Biocontrol Science and Technology. 22(8). 855-872.